

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Doença de Wilson: abordagem terapêutica

Rui Miguel Saraiva de Oliveira

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2017

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Doença de Wilson: abordagem terapêutica

Rui Miguel Saraiva de Oliveira

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Orientador: Professora Doutora Judite Costa

2017

Resumo

O cobre é um oligoelemento indispensável a todos os organismos para a sua sobrevivência e desenvolvimento. Funciona como cofator de algumas enzimas que estão envolvidas em processos fisiológicos importantes, como a respiração celular, a produção de energia, a manutenção do tecido conjuntivo e a neurotransmissão. Deste modo, é fundamental garantir o seu equilíbrio homeostático. Este metal é obtido maioritariamente através da dieta alimentar. A quantidade de cobre necessária ao organismo depende da faixa etária. Desequilíbrios na quantidade ingerida podem originar um défice no organismo ou um estado de toxicidade.

Algumas doenças, como a Doença de Wilson, estão associadas a mutações genéticas que alteram o metabolismo do cobre, e que levam à sua acumulação nos tecidos. Esta doença caracteriza-se por uma mutação rara no gene ATP7B, que origina uma diminuição da incorporação de cobre na ceruloplasmina. As principais manifestações clínicas da doença são a presença de distúrbios neuropsiquiátricos e a doença hepática (na fase aguda ou crónica). Os anéis de Kayser-Fleischer, apesar de não serem específicos da doença, são a manifestação mais notória. A Doença de Wilson quando não tratada é fatal. O curso da doença é favorável, desde que diagnosticada o mais precoce possível. A presença de anéis de Kayser-Fleischer e de um nível de ceruloplasmina sérica baixo ($< 0,1$ g/L) é geralmente suficiente para se estabelecer um diagnóstico. O tratamento deve ser introduzido logo que diagnosticada a doença. Os agentes quelantes têm sido o tratamento de eleição, pois complexam o cobre, possibilitando a sua eliminação. A D-Penicilamina foi o primeiro fármaco a ser utilizado para a Doença de Wilson. Tem vindo a ser substituído pela Trientina, dada a elevada incidência de neurotoxicidade resultante do tratamento. O Zinco diminui a absorção de cobre, e pode ser utilizado isoladamente ou associado a um agente quelante, preferencialmente em doentes com manifestações neurológicas. Estes fármacos podem ser utilizados durante o período de gestação. O Tetratiomolibdato de Amónio, apesar de não estar aprovado pela “US Food and Drug Administration”, tem demonstrado vantagens comparativamente aos agentes quelantes. Nos casos de Insuficiência Hepática Aguda, é necessária a realização do transplante hepático, pois o tratamento com agentes quelantes é geralmente ineficaz.

Palavras-chave: Cobre; Doença de Wilson; Abordagem terapêutica

Abstract

Copper is a trace element essential to all organisms to their survival and development. Acts as a cofactor of some enzymes that are involved in important physiological processes such as cellular respiration, energy production, the maintenance of connective tissue and neurotransmission. In this way, it is essential to ensure its homeostatic balance. This metal is obtained mostly through diet. The amount of copper required depends on the age group. Imbalances in the amount ingested can cause a deficit in the body or a state of toxicity.

Some diseases such as Wilson's disease, are associated with genetic mutations that change the metabolism of copper, and lead to its accumulation in tissues. This disease is characterised by a rare mutation in the ATP7B gene, which causes a decrease in copper incorporation into ceruloplasmin. The main clinical manifestations of the disease are the presence of neuropsychiatric disorders and liver disease (acute or chronic phase). The Kayser-Fleischer rings, although not specific to the disease, are the most notorious manifestation. Wilson's disease when untreated is fatal. The course of the disease is favorable, provided it is diagnosed as early as possible. The presence of Kayser-Fleischer rings and a low level of serum ceruloplasmin (< 0.1 g/L) is usually enough to establish a diagnosis. Treatment should be introduced as soon as the disease is diagnosed. Chelating agents have been the treatment of choice, because they complex copper, enabling its elimination. D-Penicillamine was the first drug to be used for Wilson's disease. It has been replaced by Trientine, given the high incidence of neurotoxicity resulting from the treatment. Zinc reduces copper absorption, and may be used alone or in combination with a chelating agent, preferably in patients with neurologic manifestations. These drugs can be used during the gestation period. Ammonium Tetrathiomolybdate, despite not being approved by the US Food and Drug Administration, has shown advantages over chelating agents. In cases of acute liver failure, hepatic transplantation is necessary, since treatment with chelating agents is usually ineffective.

KeyWords: Copper; Wilson's disease; Therapeutic approach

Agradecimentos

Quero agradecer a todos os que contribuíram com apoio e amizade para o desenvolvimento desta monografia. Um agradecimento especial à minha família por me ajudar a ser melhor todos os dias, em especial à minha irmã e à minha avó. Quero agradecer particularmente à minha mãe Anália, por toda a compreensão, paciência, tempo e carinho que me dedicou. Ao meu pai António, quero agradecer por todo o tempo e atenção disponibilizados para me ajudar nesta etapa.

À Professora Doutora Judite Costa, os meus agradecimentos por toda a receptividade, dedicação, empenho e tempo disponibilizado ao longo da elaboração desta monografia. Agradeço também todos os conselhos e observações dados para a elaboração o tema.

Manifesto também a minha gratidão à Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, que me ajudou a desenvolver enquanto homem e farmacêutico.

Aos amigos mais próximos, um agradecimento especial por todo o apoio dado. À Sofia, quero agradecer pela presença constante.

Índice geral

Resumo	2
Abstract	3
Agradecimentos	4
Índice geral	5
Índice de figuras	7
Lista de abreviaturas	8
Materiais e métodos	9
1. Cobre	10
1.1 Química	10
1.2 Fontes de cobre	10
1.3 Quantidade de cobre necessária ao organismo	11
1.4 Funções biológicas	11
1.5 Expressão genética	12
1.6 Farmacocinética	12
1.7 Toxicidade	15
2. Doença de Wilson	15
2.1 Manifestações clínicas da Doença de Wilson	16
2.2 Manifestações oftalmológicas	17
2.3 Manifestações hepáticas	17
2.3.1 Insuficiência hepática aguda	18
2.3.2 Hepatite crónica e cirrose	18
2.4 Hemólise	18
2.5 Sintomatologia neurológica	19
2.6 Sintomatologia psiquiátrica	20
2.7 Outras manifestações	20
3. Prognóstico	21
4. Métodos de diagnóstico da doença	21
4.1 Cobre sérico	21
4.2 Ceruloplasmina sérica	22
4.3 Cobre excretado na urina	22
4.4 Concentração de cobre no parênquima hepático	23
4.5 Histologia do fígado	23
4.6 Avaliação neurológica	23
4.7 Testes genéticos	24

4.8 Rastreio familiar	24
5. Tratamento	24
5.1 Agentes quelantes	25
5.1.1 Penicilamina	27
5.1.2 Trientina	30
5.2 Zinco	32
5.3 Tetratiomolibdato de Amónio	34
5.4 Transplante	35
5.5 Tratamento na gravidez	36
5.5.1 Contraceção hormonal na Doença de Wilson.....	37
5.7 Outros tratamentos	38
6. Alimentação	38
7. Conclusão	39
8. Referências bibliográficas	40
9. Anexos	46

Índice de figuras

Fig. 1. Mecanismo de transcrição regulado pelo cobre	12
Fig. 2. Modelo de absorção e transporte de Cu ao nível dos órgãos e tecidos	13
Fig. 3. Transporte intracelular de cobre	14
Fig. 4. Anéis de Kayser-Fleischer	17
Fig. 5. Estrutura molecular do BHA	19
Fig. 6. Sinal “Face do Panda Gigante”, revelado por RM	24
Fig. 7. Formação do complexo metal/ligando, com ligandos mono, bi e polidentados	25
Fig. 8. Estrutura química da molécula de Penicilamina	27
Fig. 9. Estrutura química da molécula de D-Penicilamina	27
Fig. 10. Estrutura química da molécula de Trientina	30
Fig. 11. Formação do complexo Trientina-cobre	30
Fig. 12. Estrutura química do sal Acetato de zinco	32
Fig. 13. Estrutura química do ião Tetratiomolibdato de Amónio.....	34
Fig. 14. Formação do Complexo Tetratiomolibdato de Amónio-cobre	34

Lista de abreviaturas

ADN: Ácido Desoxiribonucleico;
ASM: Esfingomielinase ácida;
AST: Aspartato Aminotransferase;
ATN-224: Sal de colina do Tetratimolibdato de Amónio;
Atox 1: Chaperon do cobre;
ATP: Adenosina Tri-Fosfato;
ATP7A: ATPase transportadora de cobre;
ATP7B: ATPase transportadora de cobre;
BHA: Antioxidante lipídico hidroxianisol-butilado;
CTR1: Proteína transportadora de cobre;
Da: Dalton;
DAT: Diacetiltrietilenotetramina;
DW: Doença de Wilson;
GP73: Proteína da membrana de Golgi;
H₂O₂: Peróxido de Hidrogénio;
hCTR1: Proteína transportadora de cobre humana;
HELLP: Síndrome de Baixa Contagem de Plaquetas;
IHA: Insuficiência Hepática Aguda;
INR: Razão Normalizada Internacional (coagulação);
LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade;
MAT: Acetiltrietilenotetramina;
MNK: Proteína de Menkes;
MTs: Metalotioneínas;
NAD⁺: Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina, no estado oxidado;
OLT: Transplante de fígado ortotópico;
PAM: Amino-Oxidase Peptidilglicina;
RM: Ressonância Magnética;
ROS: Espécies reativas do oxigénio;
SOD-1: Superóxido Dismutase;
TC: Tomografia Computadorizada;
TGN: Trans-Golgi Network;
TM: Tetratimolibdato de Amónio;
UWDRS: Unified Wilson's Disease Rating Scale;
WHO: World Health Organization;
WND: Proteína da Doença de Wilson;
XIAP: Ligando inibidor da apoptose

Métodos

Para a realização da presente monografia, intitulada “Doença de Wilson – abordagem terapêutica”, realizou-se uma revisão da literatura publicada. Foram utilizadas as bases de dados online, como a Pubmed e o motor de busca Google Scholar. Foram pesquisados artigos, utilizando como palavras-chave: “copper metabolism”; “Wilson’s disease”; “Wilson’s disease diagnostic” “Wilson’s disease treatment”; “chelation”, entre outras. Não foram feitas restrições nas datas das publicações. Ainda assim, foi dada prioridade às referências mais recentes. A seleção dos artigos mais relevantes foi possível após leitura do abstract e, em alguns casos, da leitura integral do artigo em causa. Noutras situações, foram escolhidos artigos que estavam referenciados nos selecionados inicialmente. Procedeu-se ainda à pesquisa de informação em alguns livros da área de química e farmacologia.

Para a organização de referências bibliográficas, foi utilizado o programa informático Mendeley.

1 Cobre

O cobre é um metal usado pelo Homem desde 8000 aC. É essencial para o desenvolvimento saudável da vida humana e animal, sendo considerado um oligoelemento.

Foi identificado pela primeira vez em 1816, nas cinzas de diversas plantas, e após um século, no cérebro humano. Por conseguinte, foi proposto que este elemento metálico desempenharia funções importantes e vitais em processos bioquímicos (1,2).

1.1 Química

Encontra-se na natureza em alguns minerais, como a cuprite (Cu_2O), a calcopirite (CuFeS_2), e a calcocite (CuS_2), entre outros. Apresenta uma cor castanho-avermelhada. É um excelente condutor térmico e elétrico. A sua forma metálica é bastante estável ao ar, desde que sujeito a baixas condições de temperatura e humidade. É moderadamente solúvel em água, em soluções ligeiramente ácidas ou soluções salinas. Pode-se dissolver em soluções de ácido nítrico ou sulfúrico, assim como em soluções básicas de hidróxido de amónio ou de carbonato de amónio (3).

Na tabela periódica, pertence ao grupo dos metais de transição. Está localizado no 11º grupo, no 4º período. O seu símbolo químico é “Cu”, o número atómico é 29 e tem uma massa atómica relativa de 63,546 unidades (Figura 1- representada em anexo).

Este metal apresenta 4 estados de oxidação: Cu^0 , Cu^{+1} , Cu^{+2} e Cu^{+3} . Estes influenciam a sua toxicidade e biodisponibilidade e a formação de compostos de coordenação. A configuração eletrónica da sua forma metálica é: $\text{Cu}^0 - 1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^1$ -. Os seus estados de oxidação mais comuns são o cuproso (Cu^{+1}) e o cúprico (Cu^{+2}). Deste modo, o cobre apresenta uma dualidade em aceitar ou doar eletrões, o que o torna um elemento preponderante nas reações de oxidação-redução (3).

O ião cuproso é rapidamente oxidado na presença de um agente oxidante ou através de uma reação de dismutação. Se for estabilizado na forma de complexo, o mesmo não se verifica.

O ião cúprico é o mais importante. Neste estado oxidado, o cobre liga-se, principalmente através do átomo de oxigénio, a ligandos inorgânicos como a água, o ião hidróxido, o ião sulfato e o ião carbonato e a ligandos orgânicos através de grupos fenólicos e carboxílicos (3).

O Cu tem diversos isótopos radioativos, sendo os mais abundantes: o ^{63}Cu (69,17%) e o isótopo ^{65}Cu (30,83%) (3).

1.2 Fontes de cobre

Este metal é obtido maioritariamente através da alimentação e da suplementação dietética. As nozes, as sementes de girassol, o chocolate negro, o fígado e os rins de alguns animais, são exemplos de alimentos ricos em cobre. Em anexo encontram-se descritas as concentrações de

cobre em alguns alimentos (Tabela 1). A concentração de cobre nos alimentos depende dos seguintes fatores: das condições climáticas em que são produzidos os alimentos; do pH; da utilização ou não de fertilizantes na produção de alimentos; e dos processos de fabrico para obtenção do produto final. A concentração de cobre na água potável depende dos solos de origem. Pode existir uma grande ingestão deste metal através da água, em especial se esta circular em sistemas de canalização de cobre (4).

1.3 Quantidade de cobre necessária ao organismo

Num adulto, que pese entre 50 kg - 70 kg, a ingestão de cobre é de cerca de 1-1,4 mg/dia, podendo atingir os 2 mg/dia (1). O valor proposto pela WHO é cerca de 0,9-2,7 mg/dia (5). Este intervalo de valores depende dos hábitos alimentares e dos processos agrícolas das diferentes regiões do globo. Na Índia, a ingestão média de cobre é maior relativamente aos países ocidentais (5,7 a 7,1 mg/dia) (6). As doses diárias de cobre em função da idade encontram-se descritas em anexo (Tabela 2). A WHO considera que aproximadamente 10% do valor total de cobre ingerido provém da água.

1.4 Funções biológicas

Este metal desempenha diversas funções fisiológicas em diferentes órgãos e sistemas do corpo humano. Contribui para uma comunicação neuronal mais eficaz. É essencial para a formação e reparação dos ossos, pois apresenta um papel vital na formação de colagénio. Permite também, deste modo, manter a pele saudável. O Cu auxilia também o crescimento dos vasos sanguíneos e o suporte da sua elasticidade, mantendo a pressão sanguínea em valores normais. Intervém ainda na formação de células que compõem o sistema imunitário (7).

Existem no organismo enzimas dependentes do cobre (enzimas “cupro-dependentes”), que apresentam um papel fundamental em diversos processos fisiológicos. Algumas destas enzimas encontram-se descritas em anexo (Tabela 3). Do grupo das Amino-Oxidases destaca-se a Monoamino-Oxidase (importante na degradação da serotonina e metabolismo de catecolaminas), a Diamino-Oxidase (inativa a histamina), a PAM (atua na síntese de neuropéptidos) e a lisil-oxidase (permite a ligação cruzada de colagénio e elastina) (7,8).

Estão também descritas em anexo algumas proteínas que se ligam ao cobre e que desempenham um papel no seu transporte: as Metalotioneínas (MTs). Estas são um grupo de proteínas não enzimáticas, ricas em cisteína. Cada MT pode ligar-se a 11 ou 12 átomos de cobre. Têm também uma função de armazenamento, o que evita um estado de toxicidade de cobre no plasma (Tabela 4).

1.5 Expressão genética

O cobre regula a transcrição de alguns genes. Os fatores de transcrição dependentes do Cu encontram-se descritos em anexo (Tabela 5).

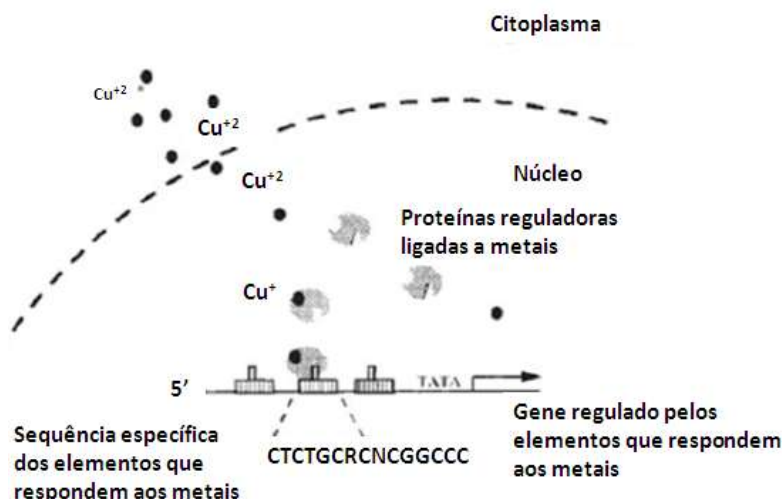


Fig. 1. Mecanismo de transcrição regulado pelo Cobre: Adaptado da referência (7).

O cobre ao entrar no núcleo da célula eucariota liga-se às proteínas de transcrição: Ace1, Amt1 e Mac1. Assim, as proteínas tornam-se ativas e ficam preparadas para interagir com a sequência específica dos elementos que respondem aos metais (7).

1.6 Farmacocinética

A absorção do cobre é feita ao longo do trato gastrointestinal. Cerca de 20 a 70% do cobre ingerido é absorvido no intestino delgado. Nos adultos a absorção máxima é de 50%, enquanto nas crianças é de 77%. Um aumento excessivo do fornecimento de Cu na alimentação diminui a sua absorção, e vice-versa. A ingestão diária de 0,8-1,0 mg deste metal permite manter a homeostase relativamente à absorção (8).

A biodisponibilidade do cobre depende maioritariamente da sua absorção. Pode ser modificada pela presença de certos nutrientes na dieta (9). Doses elevadas de zinco diminuem a absorção de cobre. O molibdénio em excesso favorece a excreção de cobre (supõe-se que este equilíbrio possa ser repostado com um aumento da dose de cobre). Concentrações elevadas de aminoácidos levam a uma ligação entre os péptidos e o cobre no lúmen intestinal, o que reduz a absorção deste metal (a sua absorção é favorecida em concentrações moderadas). Os ácidos orgânicos (citrato, malato, lactato), ao aumentarem a solubilidade do meio, favorecem a absorção de Cu. O estado fisiológico intrínseco (gravidez, estados inflamatórios, diabetes...) influencia o equilíbrio da concentração deste metal no organismo. A bomba Na/ATPase está envolvida na transferência de Cu presente nos enterócitos do lúmen para a corrente sanguínea. Uma diminuição de sódio disponível no lúmen reduz a absorção de cobre (10).

O cobre pode também sofrer interações com alguns fármacos. Os antiácidos, quando usados excessivamente, diminuem a absorção de cobre, devido a um aumento do pH. Por conseguinte, originam a formação de hidróxidos de cobre e de complexos que levam à sua excreção. Para a absorção deste metal ser potenciada, o pH deve ser ácido (10).

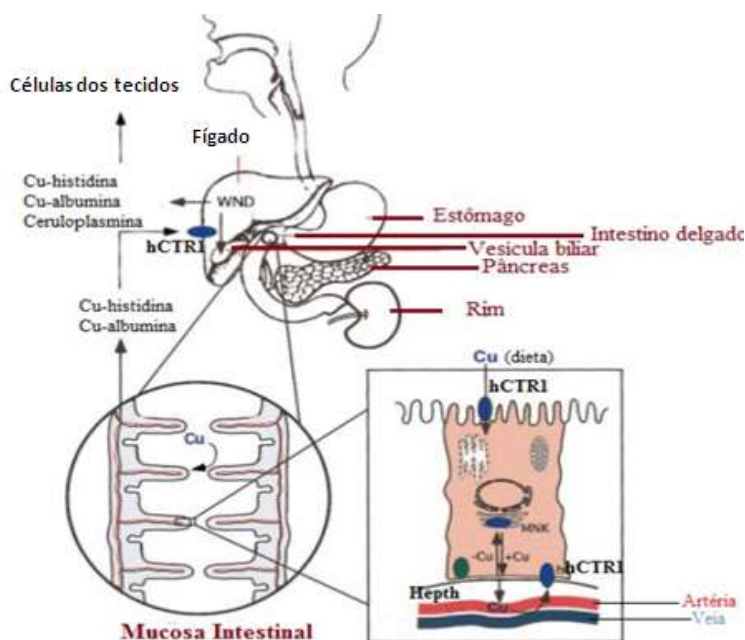


Fig. 2. Modelo de absorção e transporte de Cu ao nível dos órgãos e tecidos; Adaptado da referência (8).

A hCTR1 é uma proteína com 3 domínios composta por 190 aminoácidos (em especial, metionina e histidina), necessária para o transporte de Cu. O processo de transferência de Cu^+ para a hCTR1 é mediado por redutases da membrana apical (reduzem o Cu^{2+}). O íon cuproso é posteriormente transportado através das células da mucosa intestinal (8).

Após a sua absorção, o cobre é transportado no plasma, através da veia porta, ligado à albumina, à histidina ou à proteína de Menkes (MNK), até ao fígado, onde é rapidamente depositado. Nesta fase, supõe-se que a hCTR1 transporte os íons de Cu^+ até aos enterócitos. Somente uma pequena porção de cobre é transportada para o rim (8).

O fígado é o principal órgão de distribuição e metabolismo do cobre. Ao chegar a este órgão, este metal é incorporado pela proteína WND na via de secreção. Alguma percentagem de cobre é ainda incorporada nas MTs, especialmente quando a sua quantidade é elevada. A biliar desempenha também um papel importante na incorporação do cobre, pois apresenta uma relação de proporcionalidade direta com a quantidade de cobre. O cobre pode ser incorporado noutros tecidos: músculo-esquelético, cérebro e tecido conjuntivo. Este processo é mais lento e envolve menores quantidades. Contudo, o fígado é o único órgão com capacidade para mobilizar o Cu em situações de balanço negativo (8).

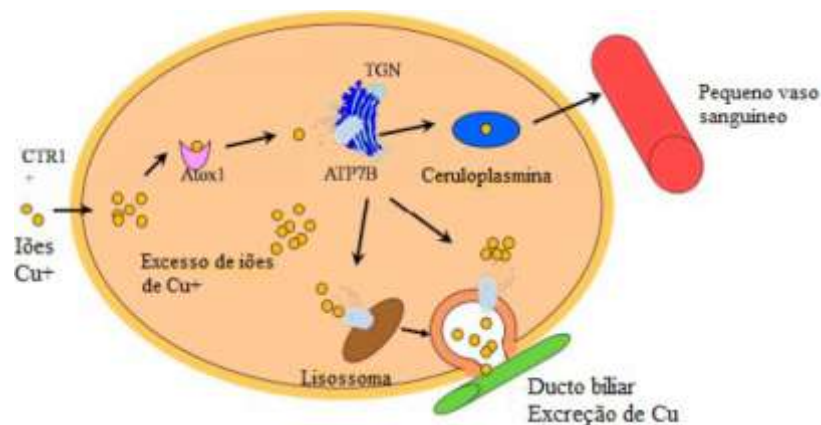


Fig. 3. Transporte intracelular de cobre; Adaptado da referência (11)

O Cu ligado ao seu transportador é libertado do fígado para a corrente sanguínea, e é posteriormente incorporado nas células, através de recetores específicos: CTR1. O CTR1 é uma proteína transmembranar que se movimenta entre a membrana plasmática das células e o meio intracelular. Existe maioritariamente nas células intestinais, nas células endoteliais dos capilares cerebrais e no parênquima cerebral. Quando a concentração de cobre aumenta, a CTR1 é interiorizada pela membrana e fica em contacto com o meio intracelular. Esta proteína desempenha um papel fulcral no transporte de cobre para o embrião, e a sua mutação é fatal (11).

Aquando da ligação entre o transportador e o CTR1, o cobre liberta-se do seu transportador e entra no meio intracelular. Já no meio intracelular, o Cu^+ une-se à Atox 1 (chaperon do cobre, que regula o “tráfego” de cobre no organismo) e é transportado até ao TGN (Trans-Golgi Network). Nesta fase, alcança o lúmen com o auxílio das Cu-ATPases tipo P (ATP7A e ATP7B). A ATP7A existe na maioria dos órgãos (à exceção do fígado) e está envolvida no transporte de cobre para o complexo de Golgi. É fundamental para que o cérebro receba as quantidades de cobre necessários ao seu funcionamento. A ATP7B está envolvida na entrega de íons de cobre aos hepatócitos, e situa-se na membrana apical. Posteriormente, o cobre é incorporado pela ceruloplasmina e é libertado para a circulação sanguínea. A maioria das células consegue adaptar-se e “reciclar” o cobre intracelular, o que permite uma maior adaptação em casos de défice ou excesso de cobre (11).

A ceruloplasmina (ou Ferroxidase I) é uma proteína oxidase que tem uma estrutura cristalina com 6 íons de cobre fortemente coordenados. Metade dos íons está na forma de Cu^+ (envolvidos na transferência de eletrões). Os outros 3 íons estão sob a forma de Cu^{+2} , localizados num centro trinuclear, onde ocorre a ativação do oxigénio durante o ciclo catalítico da enzima. É sintetizada no fígado através da incorporação de cobre na via de secreção, por meio da proteína WND (8). Atua, além do transporte de cobre (responsável por cerca de 2/3 do mesmo), no transporte de ferro, uma vez que converte o Fe^{+2} da ferritina (proteína responsável pela reserva de ferro) em Fe^{+3} da transferrina (proteína responsável pelo transporte de ferro) (7). Numa situação de défice de cobre, a ceruloplasmina reduz a sua capacidade de incorporar este metal, sem diminuir a quantidade produzida (8).

A maioria das células consegue captar cobre da albumina ou de outros complexos, quando a quantidade de ceruloplasmina está reduzida ou mesmo em casos de aceruloplasmina (ausência de transporte de cobre pela ceruloplasmina) (8).

A bÍlis constitui a principal via de excreção do cobre hepático nos mamíferos (cerca de 80%). Está envolvido um mecanismo de exocitose pelos lipossomas intracelulares e posterior ligação de cobre a ATPases localizadas na membrana canalicular (canal onde a bÍlis é drenada). A via de excreção urinária é pouco relevante (cerca de 30 a 60 µg) (9). Pode ainda ser eliminado através do suor, da descamação da pele e por via fecal, em doses diárias baixas (10).

1.7 Toxicidade

O peróxinitrito (produto da reação do óxido nítrico e do superóxido) pode promover a libertação de íões de cobre da ceruloplasmina e levar à peroxidação das membranas de lisossomas dos hepatócitos. Um excesso de cobre no organismo reduz a atividade da Citocromo C-oxidade, o que prejudica a respiração mitocondrial no fígado. O cobre em excesso oxida a LDL e promove a arterogénese (12).

O Cu promove a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS). Na presença de SOD-1 ou de agentes redutores (ácido ascórbico), o Cu^{2+} pode ser reduzido a Cu^+ . O íão cuproso catalisa a formação de radicais hidroxilo a partir de H_2O_2 . Por conseguinte, ocorre a oxidação de bases e ruturas na cadeia de ADN (12).

A exposição ao Cu induz a catalase, o que conduz a um aumento das concentrações de NAD^+ e lactato, favorecendo o metabolismo anaeróbio e alterações na expressão genética. Nos casos de doença hepática é nítida a expressão de GP73 (uma proteína da membrana de Golgi). O Cobre promove a ativação de Esfingomielinase ácida (ASM) e a libertação de Ceramida A, desencadeando apoptose de hepatócitos. A produção intracelular de ROS pode também alterar a proliferação celular e a diferenciação, que podem desempenhar um papel crítico na hepatotoxicidade e neurotoxicidade induzidas pelo cobre. Ao diminuir os componentes antioxidantes do organismo, podem desenvolver-se diversas patologias: cancro, diabetes e Doença de Alzheimer (12).

2. Doença de Wilson

A Doença de Wilson (DW) é uma doença rara que foi descrita pela primeira vez em 1912 pelo neurologista Kinnier Wilson. Trata-se de uma degeneração Hepato-Lenticular progressiva – uma doença neurológica associada a cirrose hepática (9,13,14). A distribuição de cobre nos hepatócitos tem um papel importante na DW. Ficou demonstrado que o cobre não se acumula nos hepatócitos ATP7B (-/-). Trata-se de um distúrbio primário do metabolismo do cobre que ocorre devido a mutações no gene ATP7B (localizado no braço longo do cromossoma 13, na região 13q14.3) (9,15). Uma mutação neste gene leva ao não funcionamento da ATPase transportadora celular, o que conduz a uma diminuição na quantidade de cobre incorporada na

ceruloplasmina. Por conseguinte, a apoptose celular é induzida, através de uma alteração conformacional na proteína antiapoptótica XIAP (ligando inibidor da apoptose) (16) e ativação da ASM e libertação de Ceramida A (17).

A perda de ATPase transportadora leva ao aparecimento de cobre em linfócitos e à formação de depósitos extracelulares deste metal. Nesta patologia ocorrem mudanças na localização subcelular de Cu, nas vias metabólicas e na transcrição em resposta inicial à sobrecarga de Cu (12). A quantidade de WND encontra-se reduzida (8). Esta doença é ainda caracterizada por uma redução na excreção biliar de cobre. Deste modo, o cobre não é reabsorvido pelos rins, o que favorece a sua acumulação noutros tecidos extra-hepáticos, principalmente no cérebro e na córnea do olho (15). Os doentes apresentam peroxidação lipídica mitocondrial hepática, assim como concentrações reduzidas de vitamina E (12).

É uma alteração genética encontrada em todo o mundo. Apresenta uma frequência do gene de 1 em 90 a 150 pessoas e uma incidência aproximada de 1 em cada 30000 pessoas (9,15). Estão descritas mais de 500 mutações no gene. As mutações mais comuns incluem His1069Glu (Europa e América do Norte), Arg778Leu (Coreia do Sul, Japão e China), e ainda 2007del7 no Japão (3,3/100000 habitantes) e Áustria (3,0/100000 habitantes). Na ilha da Sardenha, no mar Mediterrâneo, a mutação -441/-427del é altamente prevalente (67%) (18). Em países com um maior grau de consanguinidade (Japão e Israel) a frequência do gene é maior (19). No entanto, o país com maior incidência mundial é a Costa Rica (4,9/100000 habitantes), possivelmente devido também a um elevado grau de consanguinidade.

2.1 Manifestações clínicas

É uma doença rara que pode apresentar sintomas em qualquer idade (20), embora a maioria dos mesmos surja entre os 5 e os 35 anos (15). Foi referenciado um doente com cirrose resultante de DW com 3 anos de idade (21). Cerca de 3% dos doentes são sintomáticos após os 40 anos (Ferranci P. et al. notificaram 46 pacientes sintomáticos num total de 1223 (20)). Os doentes mais idosos foram diagnosticados na nona década de vida (22).

As manifestações clínicas mais comuns da DW são a doença hepática e a presença de distúrbios neurológicos. As manifestações hepáticas são mais comuns nos doentes mais jovens, enquanto os sintomas neurológicos surgem frequentemente na terceira década de vida. Os doentes assintomáticos geralmente são detetados durante a realização do rastreio familiar (15).

Taly Ab. et al. apresentaram diversas formas da doença num estudo coorte em 282 casos: neurológica, em 195 doentes; hepática, em 42 doentes; hepática e neurológica, em 10 casos; alterações psiquiátricas em 7 doentes; alterações osteomusculares em 6 casos. Em 15 doentes a doença manifestou-se de forma assintomática. Nos casos mais jovens foi notória a forma hepática e assintomática da doença. As características neurológicas predominantes foram: síndrome similar ao Parkinson (62,3%), distonia (35,4%); alterações no cerebelo (28%); e anomalias comportamentais (16%). Os anéis de Kayser-Fleischer foram observados em todos

os doentes neurológicos, em 86% dos doentes hepáticos e em aproximadamente 59% dos doentes assintomáticos. Foi também identificada história familiar da doença em cerca de 47% dos casos e consanguinidade em 54% (nestes casos, a doença manifestou-se numa idade mais precoce). A ceruloplasmina sérica encontrou-se diminuída em 93% dos casos e a excreção urinária de cobre durante 24 horas aumentou em 70% dos doentes. Foram identificadas anormalidades eletrofisiológicas em muitos pacientes, por meio de Ressonância Magnética (RM) e TC (Tomografia Computadorizada) (6).

2.2 Manifestações oftalmológicas

A manifestação clínica mais notória da DW é os anéis de Kayser-Fleischer, apesar de não ser específica da doença. São caracterizados pela deposição de cobre na membrana Descemet da córnea, na qual é formada uma camada granular com tonalidade verde-dourada na zona proximal do limbus. Estão presentes em cerca de 90% dos doentes que apresentam sintomatologia neurológica e em 55% dos pacientes sem a mesma. Nas crianças com manifestações hepáticas e em doentes assintomáticos, a frequência dos anéis é interindividual, mas tende a ser baixa. Para identificar de forma mais notória os anéis de Kayser-Fleischer é necessário a realização de um exame de lâmpada de fenda. A sua ausência não exclui o diagnóstico de DW (16,17).



Fig. 4. Anéis de Kayser-Fleischer; https://www.google.pt/search?q=aneis+de+keyser-fisher&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjX89e5qcXVAhWEPxoKHbNwD0AQ_AUICigB&biw=1280&bih=670#imgsrc=wc3uSmcjqCfhgM

As cataratas de Girassol, a cegueira noturna, a neurite ótica e a palidez do disco ótico são exemplos de outras manifestações oftalmológicas mais raras que também podem surgir (16).

O efeito do tratamento farmacológico ou do transplante de fígado pode levar ao desaparecimento destes sintomas, embora não ocorra em todos os casos (16).

2.3 Manifestações hepáticas

Qualquer forma de doença hepática pode ser encontrada em doentes com DW (9,15). Estas manifestações variam de pequenas alterações nos parâmetros bioquímicos a estados mais graves, como a Insuficiência Hepática Aguda (IHA) ou cirrose associada a hipertensão portal. Uma alteração hepática evidente pode preceder em até 10 anos a sintomatologia neurológica (16). A maioria dos utentes com manifestações neurológicas apresenta algum grau de doença

hepática (15). Em anexo está representada a frequência dos sintomas clínicos de doentes com DW hepática, em 3 países diferentes (Tabela 6).

2.3.1 Insuficiência hepática aguda

A IHA devida à DW é também conhecida por “hepatite fulminante” ou “Doença de Wilson aguda”. A DW é responsável por 2 a 3% até 6 a 12% dos doentes com IHA. Ocorre predominantemente em mulheres jovens (rácio mulheres: homens – 4:1) e em casos de anemia hemolítica Coombs negativo ou com níveis de bilirrubina > 20 mg/dl (15,17).

O índice bilirrubina total/fosfatase alcalina com um valor superior a 2 é um forte indicador de diagnóstico. A hemoglobina, a colinesterase, a fosfatase alcalina e o ácido úrico apresentam valores baixos relativamente aos parâmetros normais. As aminotransferases encontram-se ligeiramente aumentadas. Os níveis de ceruloplasmina são normalmente baixos, embora possam estar normais em aproximadamente 15% dos casos. As crianças podem apresentar-se assintomáticas, com hepatomegália ou terem níveis de aminotransferases aumentados. A presença dos anéis de Kayser-Fleischer ocorre em 50% dos casos (16,18). É importante a realização de exames bioquímicos, uma vez que a IHA apresenta manifestações clínicas idênticas a um estado de hepatite viral (icterícia e desconforto abdominal) (15).

Se não for tratada, evolui para um estado crónico de cirrose, manifestando-se também insuficiência renal. Em casos mais graves, manifesta-se encefalopatia com edema cerebral, que leva à morte em praticamente 95% dos casos (16).

Doentes previamente tratados e que pararam a medicação podem desenvolver uma rápida deterioração, mais acentuada nos jovens (16). Um doente, após 20 anos estabilizado com D-Penicilamina, suspendeu o tratamento. Ao fim de dois anos e meio, o doente faleceu de insuficiência hepática (23).

2.3.2 Hepatite crónica e cirrose

Este estado mais avançado de doença hepática está presente em muitos doentes, e manifesta-se de uma forma compensada ou descompensada. A esplenomegália é uma sintomatologia importante para o diagnóstico desta patologia hepática. Esta sintomatologia pode surgir devido a um estado de cirrose clinicamente assintomático com hipertensão portal. Pode também manifestar-se icterícia, dores abdominais e um mal-estar geral (15,16).

2.4 Hemólise

A anemia hemolítica Coombs-Negativa pode ser, nalgumas situações, o único sintoma inicial de DW. A hemólise de baixo grau pode estar associada à DW, mesmo em situações de não evidência clínica de doença hepática. A hemólise é agravada pela deterioração de células

hepáticas, que libertam o cobre armazenado. Se for apresentada de uma forma muito acentuada, encontra-se associada a um estado grave de doença hepática. Este estado patológico auxilia o diagnóstico diferencial entre IHA e icterícia (16).

Em grávidas não diagnosticadas com DW, situações de insuficiência hepática com hemólise podem ser confundidas e interpretadas como Síndrome de Baixa Contagem de Plaquetas (HELLP) (24).

Forman SJ. et al. demonstraram que a adição do antioxidante lipídico hidroxianisol-butilado (BHA) suprime a hemólise em células tratadas com cobre (25).

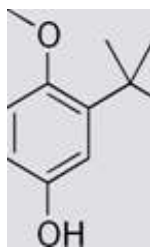


Figura 5. Estrutura molecular do BHA;

[https://www.google.pt/search?q=hidroxianisol+butilado+\(BHA\)&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj5mQlrvUAhVBthoKHf9ABXwQAUIBygC&biw=1422&bih=787&dpr=0.9#tbm=isch&q=hidroxianisol+butilado+\(BHA\)+molecule&imgsrc=PuRctIO31KY0QM](https://www.google.pt/search?q=hidroxianisol+butilado+(BHA)&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj5mQlrvUAhVBthoKHf9ABXwQAUIBygC&biw=1422&bih=787&dpr=0.9#tbm=isch&q=hidroxianisol+butilado+(BHA)+molecule&imgsrc=PuRctIO31KY0QM)

2.5 Sintomatologia neurológica

Os sintomas neurológicos geralmente são secundários à deposição de cobre, que destrói as células nervosas (26). Pode ser a primeira alteração clínica do doente ou manifestar-se num período mais tardio da doença. Em casos mais graves, surge simultaneamente com manifestações hepáticas, e pode ser confundida como encefalopatia hepática. Por vezes, os sinais neurológicos dificilmente são classificados, pois os doentes podem apresentar simultaneamente diversos estados de doença, com diferentes graus de gravidade (15).

As alterações do foro neurológico podem ser classificadas como: Parkinsonismo Secundário; Pseudoesclerose; Ataxia; Distonia. O distúrbio do movimento caracteriza esta apresentação clínica. A expressão facial alterada, com o queixo caído e retração dos lábios são comuns nestas situações. Frequentemente são manifestados sintomas precoces, como a alteração do discurso. Em casos mais graves, alguns doentes ficam acamados, e por ventura, incapacitados de falar (15). A distonia pode ser focal, segmentada ou muito grave, o que provoca contrações involuntárias graves ao longo do corpo. Por Ressonância Magnética (RM), ficou demonstrado que o putamen é a estrutura mais frequentemente lesionada na distonia (80%), comparativamente aos doentes com DW que não apresentam distonia (24%) (27).

O diagnóstico de pacientes associado a esta forma de doença apresenta anéis de Kayser-Fleischer. Nos casos de DW, a excreção urinária de cobre durante 24 horas é superior a 100 µg/dia (em situações normais está entre 20-50 µg/dia) (6). Os níveis séricos de ceruloplasmina não devem ser utilizados para a realização de um diagnóstico definitivo, pois

apresentam-se normais em 10% dos pacientes e diminuídos em cerca de 20% dos afetados (28). A RM pode auxiliar o diagnóstico, visto ser um método muito sensível que revela alterações cerebrais que ocorrem na DW (6).

2.6 Sintomatologia psiquiátrica

Os sintomas psiquiátricos e comportamentais são comuns (aproximadamente em 33% dos casos) e podem, por vezes, preceder a sintomatologia neurológica. Nas crianças com DW em idade escolar, a diminuição do desempenho escolar, as alterações da personalidade, com impulsividade e humor instável, entre outros comportamentos, podem ser observados. Estes sintomas são frequentemente confundidos com alterações comportamentais associadas à adolescência. Na população adulta, são observados comportamentos psicóticos semelhantes à esquizofrenia, à depressão, ou a estados de delírio. Casos de deterioração mais grave podem ser observados quando está presente uma alteração neurológica grave (15).

Num estudo efetuado com 50 doentes com DW, 9 pacientes revelaram um sintoma psiquiátrico, 7 deles 2 sintomas e 20 pacientes apresentaram mais do que 2 sintomas psiquiátricos. A ansiedade (62%), a depressão (36%), a irritabilidade (26%) e a apatia (24%) foram os sintomas manifestados com maior frequência. Concluiu-se que aproximadamente 70% dos pacientes com DW estável e de longa duração apresentam sintomas psiquiátricos (28).

2.7 Outras manifestações

Podem ocorrer outras patologias menos comuns, como gigantismo, osteoartrite ou outras alterações renais menos frequentes, como a nefrolitíase (15). Pode também surgir carcinoma hepatocelular (16).

Foi observado, num doente diagnosticado com DW, uma situação de paralisia hipocaliémica recorrente devido à acidose tubular renal, que respondeu à terapêutica com D-Penicilamina (29).

O hipoparatiroidismo pode surgir pela destruição das glândulas paratiroideias devido à deposição do cobre. Podem manifestar-se sintomas de hipocalcémia, que podem agravar as manifestações neurológicas da DW. Foi relatado um caso de DW que apresentou hipocalcémia resistente devido ao hipoparatiroidismo, o qual apresentou uma melhoria de sintomas após o tratamento com magnésio, cálcio e vitamina D, concomitante com D-Penicilamina e Zinco (30).

A Pancreatite pode também estar associada à DW, possivelmente devido à deposição de cobre no pâncreas. Um rapaz de 12 anos diagnosticado neste quadro clínico respondeu à terapêutica com D-Penicilamina. Dezoito meses após o início do tratamento, o tamanho do pâncreas e o

nível sérico de amilase encontravam-se normais, e o doente não apresentava dores abdominais (31).

3. Prognóstico

A DW quando não tratada é fatal. A maioria dos doentes morre de dano hepático, e uma minoria de complicações do foro neurológico. O prognóstico favorável depende da gravidade das diversas apresentações clínicas de DW. A terapêutica farmacológica raramente é eficaz nos doentes com IHA, sendo necessária a realização de transplante (15).

A esperança média de vida é superior em situações de sintomatologia neurológica. Porém, somente uma parte dos sintomas neurológicos é reversível (15).

Num estudo realizado em 163 pacientes com DW, após o início do tratamento, cerca de 76% dos casos apresentaram um curso estável ou de melhoria de doença, apesar dos efeitos adversos surgirem em 74,4% dos doentes. A progressão da manifestação da doença incidiu mais nos sintomas neuropsiquiátricos, comparativamente aos sintomas hepáticos (32).

O diagnóstico realizado num estado avançado de doença demonstrou ser a principal causa de morte. Não foram identificadas diferenças na taxa de mortalidade de doentes tratados com D-Penicilamina e com Sulfato de zinco, numa fase inicial. O prognóstico estabelecido para a DW é favorável, desde que a terapêutica seja instituída numa fase precoce (33).

Foi desenvolvido um índice de prognóstico da doença (Tabela 7). Baseou-se em dados de 14 pacientes já previamente analisados prospectivamente. Avalia a bilirrubina sérica ($\mu\text{mol/L}$), a AST (U/L), o INR, a contagem de Leucócitos ($10^9/\text{L}$) e a Albumina (g/L). Provou ter 93% de sensibilidade e 98% de valor preditivo (34). Os casos de pontuações iguais ou superiores a 11 são maioritariamente fatais, se não for realizado o transplante hepático (15). Porém, no grupo de 14 doentes base, 1 criança com uma pontuação de 11 sobreviveu sem tratamento médico (34).

4. Métodos de diagnóstico da doença

A presença de anéis de Kayser-Fleischer e um nível de ceruloplasmina sérica baixo ($< 0,1 \text{ g/L}$) são geralmente suficientes para se estabelecer um diagnóstico. Em situações de ausência de anéis de Kayser-Fleischer, os níveis de ceruloplasmina não são sempre fiáveis. Assim, em muitos casos, é realizada uma combinação de testes. Em Leipzig, no ano de 2001, foi proposto na 8ª reunião Internacional da Doença de Wilson, um sistema de pontuação de diagnóstico, descrito em anexo (Tabela 8) (15). Encontra-se também descrito em anexo diferentes contextos clínicos em que a DW pode ser diagnosticada (Figura 2).

4.1 Cobre sérico

O cobre sérico total (inclui o cobre ligado à ceruloplasmina) na DW normalmente tem valores mais baixos relativamente à ceruloplasmina. Porém, em situações de patologias hepáticas graves, o cobre pode apresentar valores séricos normais. Em situações de Doença de Wilson Aguda, os níveis de cobre aumentam, devido à libertação das reservas deste metal no tecido hepático (15).

Na maioria dos doentes não tratados, o cobre não ligado à ceruloplasmina tem valores superiores a 200 µg/L. A quantidade pode ser calculada subtraindo o cobre ligado à ceruloplasmina ao total da concentração de cobre sérico. Níveis de cobre séricos no soro superiores à ceruloplasmina indicam que há um aumento de concentração de cobre não ligado à ceruloplasmina no sangue (cobre livre). É um método mais útil na monitorização da terapêutica, uma vez que, enquanto teste de diagnóstico, depende dos métodos de medição do cobre sérico e da ceruloplasmina (15).

4.2 Ceruloplasmina sérica

A ceruloplasmina é o maior indicador do teor em cobre no organismo. A sua concentração é normalmente inferior a 0,1 g/L na DW. Os níveis de ceruloplasmina podem ser medidos enzimaticamente, através da sua atividade de oxidase dependente do cobre. Outros métodos de determinação são os ensaios dependentes de anticorpos (radioimunoensaio, imunodifusão) (15). Foi comparada a ceruloplasmina sérica medida enzimaticamente (com *o*-dicloridrato de *o*-dianisidina) e imunologicamente, em 110 pacientes com DW. Ficou demonstrada uma maior sensibilidade e especificidade no ensaio enzimático (93,6% e 100%, respetivamente), relativamente ao ensaio imunológico (93,6% e 78,8%) (35).

Os valores de ceruloplasmina podem apresentar-se baixos em situações de sintomatologia neurológica e em alguns casos não relacionados com a DW: Doença Celíaca e hepatite auto-imune. Os portadores heterozigóticos de mutações do gene ATP7B que não apresentam um aumento dos valores séricos de cobre também podem ter valores diminuídos de ceruloplasmina. Porém, em casos de inflamação hepática ou de tratamento realizado com estrogénios, os níveis de ceruloplasmina encontram-se normais ou aumentados (15).

4.3 Cobre excretado na urina

A quantidade de cobre excretada na urina durante 24 horas pode ser útil para diagnosticar a DW e monitorizar o seu tratamento. Nos doentes não tratados, este parâmetro reflete a quantidade de cobre não ligado à ceruloplasmina na circulação. Em doentes sintomáticos não tratados, a excreção de cobre superior a 1,6 µmol/24h é indicativo de DW. Nas crianças com doença hepática ligeira, a excreção pode apresentar-se normal ou ligeiramente aumentada. Em doentes assintomáticos, a excreção de cobre superior a 0,64 µmol/24h é sugestivo da doença (embora seja menos sensível). Este método tem como principal inconveniente a recolha incompleta de urina, pelo que a medição deve ser rigorosa. A interpretação dos valores pode ser

dificultada em casos de sobreposição com doenças hepáticas (hepatite autoimune; colestase). Este teste não é realizável em situações de insuficiência renal (15).

A excreção de cobre na urina com a administração de D-Penicilamina foi considerada um teste de diagnóstico útil na população pediátrica. A administração de 500 mg deste agente quelante num período inicial e novamente 12 horas depois, durante a colheita de urina de 24 horas, revelou uma sensibilidade de 88,2% e uma especificidade de 98,2% (36). Este método permitiu também distinguir heterozigotos de homozigotos para a DW, pois os primeiros podem ter os valores de excreção de cobre aumentados (37). Nos adultos, este teste de diagnóstico não é recomendado (15).

4.4 Concentração de cobre no parênquima hepático

Este método deve ser realizado nas situações em que o diagnóstico não é linear e em doentes jovens. Por meio de espectroscopia de absorção atômica de chama, é possível determinar o teor de cobre. O conteúdo de cobre hepático $> 250 \mu\text{g/g}$ de peso seco é considerado como a melhor evidência bioquímica para a DW (sensibilidade: 83,3% e especificidade: 96,5%), não se correlacionando com a idade e grau de fibrose (15). Verificou-se que ao diminuir o limiar de peso seco para $75 \mu\text{g/g}$, a sensibilidade aumentou (96,5%), mas a especificidade diminuiu (95,4%). A distribuição não homogênea do cobre no fígado nos estados mais avançados de DW é o principal problema deste método (38). Em doentes não tratados, depósitos de cobre hepáticos normais ($< 0,64\text{--}0,8 \mu\text{mol/g}$ de peso seco) excluem quase sempre o diagnóstico de DW (15).

4.5 Histologia do fígado

Este método é necessário quando os sinais clínicos e os testes não invasivos não permitem estabelecer um diagnóstico definitivo, ou se existir uma suspeita de patologias adicionais. A detecção do cobre nos hepatócitos é variável (em especial na fase inicial da doença), pois estes encontram-se maioritariamente no citoplasma. Este método pode revelar características histológicas de hepatite auto-imune. A ausência de cobre histoquimicamente identificável não exclui a DW (15).

4.6 Avaliação neurológica

Este parâmetro é realizado por um especialista, permitindo acompanhar os doentes antes e após o início do tratamento. A descrição clínica dos doentes é dificultada pela variabilidade de sintomas. As imagens de RM ou de TC auxiliam o diagnóstico. O sinal “face do panda gigante” é característico da doença, embora seja mais raro. Foi desenvolvida uma escala de avaliação clínica dos sintomas de DW, denominada Unified Wilson’s Disease Rating Scale (UWDRS). O seu coeficiente de correlação foi de 0,98 (excelente confiabilidade), e demons-

trou ser uma ferramenta promissora na avaliação da gravidade da doença (39). A TC de emissão de Fóton Único pode ser útil na detecção precoce de lesões cerebrais na DW. A Ressonância Magnética de prótons cerebrais é uma técnica que pode ser usada para a monitorização precisa da eficácia do tratamento da DW (hepática e neurológica) (40).

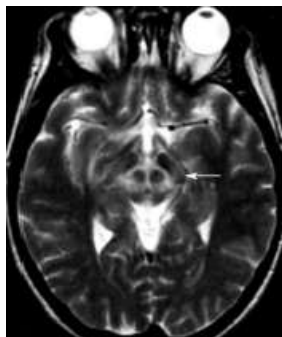


Figura 6. Sinal “Face do Panda Gigante”, revelado por RM (seta); Adaptado de: Dina A, Jacobs Clyde, Markowitz David S, Liebeskind, et al. The “double panda sign” in Wilson’s disease. Neurology. 2003 October;61;969

4.7 Testes genéticos

Os testes genéticos são o modo mais fiável de diferenciar irmãos heterozigóticos (portadores de duas mutações diferentes), de homozigóticos (portadores de uma mutação). A realização do diagnóstico molecular genético direto é difícil, pois existem mais de 500 mutações possíveis, e a maioria dos doentes é heterozigótico. É um método pouco prático e exaustivo. Contudo, pode ser realizado em qualquer doente diagnosticado com DW, quer para confirmação, quer para posterior despiste de familiares (15).

As sondas específicas dos alelos permitem a identificação direta de uma mutação (15). Para a realização deste teste, a mutação deve ter uma frequência razoável na população. Por exemplo, na sequência -441/-427del, na ilha da Sardenha, ficou demonstrada uma redução de 75% na atividade transcricional desta sequência mutada (41).

4.8 Rastreio familiar

É fundamental nos casos em que se manifeste a DW, pois a probabilidade de o irmão ser homozigótico – e deste modo, de desenvolver a doença clínica - é de 25%. Nos descendentes, a probabilidade é de 0,5%. Apesar de o risco ser baixo, a análise de mutações do gene ATP7B nos filhos é justificada, dado o impacto da doença. Os portadores heterozigóticos da doença são difíceis de diagnosticar (15).

5. Tratamento

O tratamento deve ser idealmente iniciado em doentes pré-sintomáticos ou sintomáticos, após o diagnóstico. O objetivo principal do tratamento é prevenir a ocorrência de sintomas em

doentes assintomáticos e a deterioração clínica em indivíduos afetados. Pretende alcançar um balanço negativo de cobre no organismo, através da administração de agentes quelantes, ou mediante a redução da sua absorção (favorecida pelo Zinco). Para realizar um tratamento na DW é necessário estabelecer um correto diagnóstico e deteção precoce de complicações, pois o tratamento é vitalício. Deve ser realizada uma monitorização constante, além da avaliação da eficácia do fármaco usado, de modo a determinar a adesão à terapêutica (18).

Encontram-se disponíveis diversos fármacos: D-Penicilamina, Trientina, Tetratiomolibdato de Amónio e sais contendo o ião zinco (II). Recomenda-se que os doentes assintomáticos sejam tratados com uma dose mais baixa do que a utilizada para a doença sintomática. Estes últimos devem ser inicialmente tratados com agentes quelantes, em combinação ou não com Zinco (18). O transplante de fígado é indicado em pacientes que apresentem IHA e que não respondam aos fármacos, ou que se apresentem em fase terminal da doença (15).

Durante o tratamento, devem ser monitorizados, pelo menos 2 vezes por ano, os seguintes parâmetros: o cobre sérico, a ceruloplasmina, as enzimas hepáticas, o INR e o hemograma completo. A excreção de cobre na urina ao longo de 24 horas sob medicação, e após 2 dias do término do tratamento, deve ser medida, pelo menos anualmente. O cobre não ligado à ceruloplasmina sérica é outro parâmetro útil para o controlo do tratamento. Exames físicos e neurológicos também devem ser realizados com regularidade (15).

5.1 Agentes quelantes

Os agentes quelantes são compostos que se podem coordenar a iões metálicos formando complexos com estrutura em forma de anel. Aos complexos formados dá-se a designação de quelatos. Os agentes quelantes possuem átomos doadores (átomos com pares de eletrões disponíveis) que formam ligações covalentes com um ião metálico central. O número de ligações estabelecidas depende do raio do ião metálico, da identidade do ligando e das interações eletrónicas. O número máximo de ligações que se podem estabelecer entre o ião central e os átomos doadores do ligando é denominado "número de coordenação". Os ligandos denominam-se monodentados, bidentados ou polidentados, se a ligação se dá por meio de 1, 2 ou mais do que 2 átomos doadores ao ião central, respetivamente (42,43).

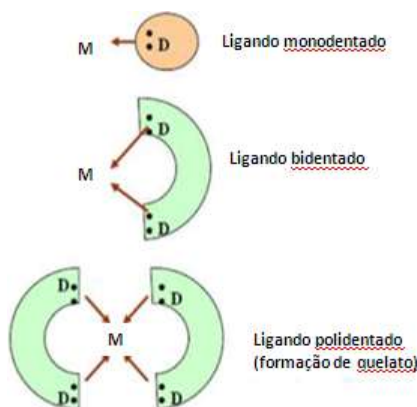
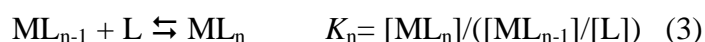
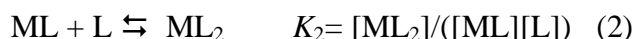


Figura 7: Formação do complexo metal/ligando, com ligandos mono, bi e polidentados. Legenda: M – Metal; D – átomos doadores do ligando; Adaptado da referência (43)

A estabilidade do complexo formado é tanto maior quanto maior for o número de ligações envolvidas. No processo de formação, a entalpia e a entropia contribuem para a energia livre da reação envolvida e, por consequência, para a magnitude da constante de estabilidade a ela associada (também designada por constante de formação) (43).

Os complexos formados com ligandos polidentados apresentam geralmente constantes com valores mais elevados. O raio do ião metálico e a dimensão do anel heterocíclico são alguns dos fatores que influenciam a estabilidade do complexo (42,43). A maioria dos agentes quelantes não forma complexos a pH baixo, enquanto que, a pH elevado, os iões metálicos tendem a formar hidróxidos insolúveis, os quais são menos acessíveis aos agentes quelantes (43). A via de administração, a biodisponibilidade, o metabolismo, os compartimentos dos diversos órgãos e a excreção influenciam a eficácia do agente quelante (44).

O estado de equilíbrio entre a concentração do metal [M] e a concentração do ligando [L] pode ser expresso quantitativamente através da constante “K”:



Estas constantes correspondem a constantes de formação parciais, cada uma referente à ligação sucessiva de um ligando ao ião central. A constante de estabilidade cumulativa (ou global) – β – permite comparar diferentes agentes quelantes e a sua capacidade de formação de um complexo [ML] com um determinado ião metálico (44). Representa-se pela seguinte expressão:

$$\beta = \frac{[ML_i]}{[M][L]^i} \quad (4)$$

Esta equação assume um estado de equilíbrio entre o metal e o agente quelante, através da formação do complexo [ML] (44).

A eficácia (E) de um agente quelante para mobilizar um metal tóxico (M) é descrita pela seguinte expressão:

$$E = \frac{[ML]}{[M]} \quad (5)$$

Assim, a eficácia do agente quelante depende da sua concentração [L] e da estabilidade do complexo formado:

$$E = \frac{[ML]}{[M]} = \beta_{ML}[L] \quad (6)$$

Apesar de que um valor elevado para a constante de equilíbrio seja indicativo da formação do complexo [ML], a farmacocinética do agente quelante e a competição com os ligandos/metais

endógenos influenciam consideravelmente a formação desse complexo e podem conduzir à redução da sua estabilidade (44).

Um agente quelante deve apresentar uma elevada solubilidade lipídica, para que ocorra uma absorção considerável. As moléculas neutras penetram mais facilmente nas membranas celulares comparativamente às moléculas com carga. Os agentes quelantes com um peso molecular inferior a 200 Da são absorvidos maioritariamente a nível gastrointestinal. Se o seu peso for superior a 500 Da, a absorção é menor. De modo a maximizar a absorção, um agente quelante deve ter um peso molecular inferior a 300 Da. Os quelantes hidrófilos aumentam a excreção renal do metal, mas penetram pouco no meio intracelular (43). Os quelantes lipófilos podem diminuir as reservas intracelulares de metais tóxicos, e redistribuí-los para outros tecidos (por exemplo, o cérebro) (44).

Um agente quelante ideal deve ter as seguintes características:

- Apresentar uma elevada afinidade, baixa toxicidade e elevada solubilidade em água;
- Ser resistente à biotransformação;
- Ter capacidade de competir com quelantes naturais;
- Formar complexos com o intuito de diminuir a toxicidade da forma livre do metal, tendo em consideração o pH dos fluidos biológicos;
- Penetrar no interior das células e atingir os locais de armazenamento do metal;
- Possuir a mesma capacidade de distribuição que o metal;
- Promover a eliminação rápida do metal tóxico (43,44).

As vantagens e desvantagens da terapêutica com agentes quelantes encontram-se descritas em anexo (Tabela 9).

5.1.1 Penicilina

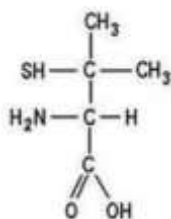


Figura 8. Estrutura química da molécula de Penicilamina; Adaptado da Referência (42)

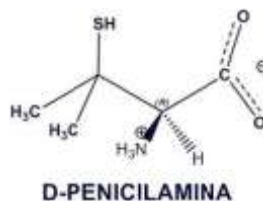


Figura 9. Estrutura química da molécula de D-Penicilamina;

https://www.google.pt/search?q=penicilamina&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj0q8CBztbTAhWGIaAKHfyqAfgQ_AUIBigB&biw=1422&bih=787#imgsrc=E_q6RiOrbGvnfM

A D-penicilamina (DPA; β-β dimetilcisteína ou 3-mercaptop-D-valina) é um aminoácido que apresenta na sua estrutura um grupo sulfidrilo, e é um produto de degradação da penicilina (42). Este agente quelante oral foi sintetizado em 1956 (18). Possui 2 estereoisómeros, mas só a forma “D” apresenta atividade terapêutica, já que o isómero “L” causa neurite ótica. A sua reatividade química resulta dos grupos funcionais que entram na constituição da molécula, dos quais o grupo “tiol” aparenta ser o mais relevante (45).

A sua determinação em fluidos biológicos é dificultada pela presença de compostos endógenos com função “tiol” na sua constituição. As várias formas químicas da molécula tornam-na instável: Penicilamina livre reduzida; Penicilamina ligada a proteínas; e compostos dissulfureto (internos e mistos). A cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica é o ensaio mais específico para a detecção da D-Penicilamina (45).

Este fármaco tem como principal efeito promover a excreção urinária de cobre. Pode também atuar na indução de metalotioneínas, o que vai promover uma maior eliminação de cobre através das fezes. A quantidade de cobre excretada depende da concentração de D-Penicilamina (18).

É administrada oralmente, ou em alternativa por via Intra-Venosa. A sua dose inicial recomendada é de 125-250 mg/dia a 250-500 mg/dia. É incrementada de 250 mg/dia a cada 4 a 7 dias, até um máximo de 1000-1500 mg/dia, divididos em 2 a 4 tomas. Este regime posológico máximo normalmente é mantido por um período inferior a 1 ano. A administração de doses de 1500 mg/dia numa única toma pode originar uma rápida deterioração neurológica. A dose de manutenção terapêutica é de 750-1000 mg/dia, administrados em duas doses. Na população pediátrica, a dose recomendada é de 20 mg/kg/dia, administrados em 2 ou 3 tomas (18).

Este agente quelante deve ser administrado 1 hora antes das refeições, pois os alimentos reduzem a sua absorção em cerca de 50%. É absorvido rapidamente, mas de forma incompleta no intestino (40-70%), apresentando variações interindividuais. Os antiácidos e o ferro também reduzem a absorção do fármaco. Situações clínicas de má absorção levam a uma diminuição da biodisponibilidade. A concentração plasmática máxima ocorre entre 1 a 3/4 horas após a ingestão (independente da dose ingerida). Numa dose ingerida de 250 mg, a concentração máxima é na ordem de 1 a 2 mg/L. Num tratamento a longo prazo, as concentrações são interindividuais. Mais de 80% da D-Penicilamina liga-se a proteínas plasmáticas, em especial à albumina (45). A quantidade restante encontra-se principalmente sob a forma livre reduzida ou na forma de bissulfuretos. Somente uma pequena porção da dose ingerida é metabolizada no fígado para S-metil-D-Penicilamina. Mais de 80% da excreção do fármaco é renal. A semi-vida de excreção renal geralmente é 1,7 - 7 horas, mas apresenta variações interindividuais (15). Os bissulfuretos são os principais compostos encontrados na urina. A excreção fecal corresponde maioritariamente à fração não absorvida deste agente quelante. Quando o tratamento a longo termo é interrompido, ocorre um período mais lento de eliminação do fármaco (4 a 6 dias), em especial na pele (45).

As reações adversas são frequentes, embora reversíveis na maioria dos casos. Estas determinam a necessidade de descontinuação do tratamento em cerca de 20-30% dos doentes (e a uma comutação para o tratamento com Trientina ou Zinco) (18). Os efeitos iniciais incluem reações de sensibilidade, caracterizadas por febre, erupções cutâneas (epidermólise bolhosa, Síndrome de Stevens-Johnson) e perturbações hematológicas: trombocitopénia, leucopénia, agranulocitose, anemia hemolítica e anemia aplásica (mais raro) (46). Estes efeitos podem surgir durante as primeiras 3 semanas (15). A disfunção renal também pode surgir, devido a um estado de proteinúria originado pela terapêutica (46). Este último precede, numa fase posterior, em muitos casos de situações de nefrotoxicidade (18). Outras reações tardias

incluem manifestações semelhantes ao Lúpus, caracterizadas por um estado de hematúria. Miastenia gravis, pancreatite e poliomiosite também se podem manifestar numa fase pós-tratamento. Casos de Síndrome de Goodpasture podem surgir em tratamentos com doses mais elevadas (46). O uso excessivo deste agente quelante pode provocar anemia sideroblástica. Acredita-se que o uso prolongado de D-Penicilamina pode levar a uma deposição hepática de ferro (18).

A sua utilização é contra indicada no Lúpus Eritematoso Disseminado e na Insuficiência Renal. A sua administração deve ser evitada em casos de hipersensibilidade ao fármaco ou aos excipientes dos comprimidos, e nos doentes em tratamento com sais de ouro ou imunossuppressores (46).

A suplementação com piridoxina é recomendada no tratamento com este agente quelante (25-50 mg/dia), uma vez que a D-Penicilamina interfere na ação da piridoxina (15,18).

Em geral, ocorre uma melhoria na função hepática em 2 a 6 meses após o início do tratamento. É também acompanhada de uma redução de icterícia e ascite (18).

A eficácia da utilização precoce da D-Penicilamina foi avaliada numa situação de Doença de Wilson Aguda. Dos 11 doentes tratados, 10 sobreviveram sem a necessidade de transplante. A administração precoce de D-Penicilamina pode evitar a necessidade de transplante hepático na maioria dos casos. É importante também realizar um diagnóstico precoce, para uma maior eficácia do fármaco (47).

Cerca de 10 a 50% dos doentes tratados com este agente quelante podem ver agravados os seus sintomas neurológicos (alguns irreversíveis) numa fase inicial do tratamento, associados a picos de cobre livre. Este aumento na concentração de cobre livre, associado a uma redução de glutathione, origina lesões celulares. O potencial redox do cobre, mutações desfavoráveis no gene ATP7B e um baixo nível da concentração de urato após tratamento com D-Penicilamina parecem igualmente estar envolvidos no agravamento dos sintomas neurológicos (48). Porém, este fármaco é amplamente utilizado devido ao seu baixo custo e por apresentar uma eficácia considerável (18).

Num estudo, o efeito de Lasiodiplodano preveniu a neurotoxicidade e as alterações comportamentais induzidas pela D-Penicilamina em 24 ratos Wistar machos. Trata-se de um componente extracelular, de peso molecular $> 1,4 \times 10^6$ Da, produzido por uma estirpe de *Lasiodiplodia Theobromae*. Este efeito protetor baseia-se num mecanismo antioxidante, interferindo numa cascata de efeitos neuroquímicos, que conduz à morte celular (49).

A monitorização do tratamento pode ser avaliada pela excreção urinária de cobre ao longo de 24 horas. Esta deve estar próxima de 3 a 8 μmol , neste período. Esta quantidade excretada é elevada logo após o início do tratamento e pode, nalguns casos, ultrapassar os 16 μmol nas primeiras 24 horas. Após 2 dias de suspensão da terapêutica, a excreção urinária de cobre deve ser $\leq 1,6 \mu\text{mol}/24\text{h}$. Valores superiores podem indicar a não adesão à terapêutica. Nos casos de não adesão, o cobre não ligado à ceruloplasmina é $> 15 \mu\text{g/L}$. A ceruloplasmina

sérica pode diminuir após o início da terapêutica. Num tratamento de longa duração, a avaliação dos parâmetros bioquímicos é importante para avaliar a eficácia terapêutica (15).

5.1.2 Trientina

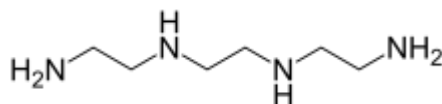


Figura 10. Estrutura química da molécula de Trientina; Adaptado da referência: (42)

A Tetraetilenotetramina (Trientina; TETA) é um agente quelante utilizado para o tratamento da DW. O cobre é quelatado através da formação de um complexo com os 4 íons de nitrogénio da molécula numa estrutura planar. A Trientina atua também através da diminuição da absorção intestinal do cobre. Tem ainda a capacidade de formar complexos estáveis com outros metais pesados, como o ferro e o zinco (42,50).

A Trientina é administrada por via oral. A sua biodisponibilidade é de aproximadamente 6-18%. A presença de alimentos, de fármacos e de suplementos minerais e vitamínicos no trato gastrointestinal pode reduzir a sua absorção em virtude da possibilidade de formação de complexos. Por conseguinte, as cápsulas de Trientina devem ser administrada 1 hora antes ou 2 horas após a ingestão de alimentos ou fármacos. Os suplementos minerais e vitamínicos só devem ser administrados caso sejam necessários. Uma vez que a Trientina é igualmente um agente quelante do ferro, a co-administração de Trientina e de ferro deverá ser evitada, uma vez que o complexo formado com o ferro é tóxico. Se a administração de ferro também for necessária, deve-se administrar sais de ferro (ou complexo polissacárido-ferro) com pelo menos 2 horas de intervalo da administração de Trientina (50).

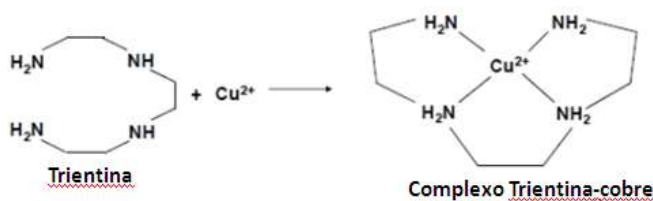


Figura 11. Formação do Complexo Trientina-cobre; Adaptado de: https://www.google.pt/search?hl=pt-PT&biw=1422&bih=738&tbm=isch&sa=1&q=tetratyomolibdate&oq=tetratyomolibdate&gs_l=psy-ab..3..0i19k1j0i13i5i30i19k1.53151.58015.0.58305.17.17.0.0.0.0.359.1894.8j7j0j1.16.0....0...1.1.64.psy-ab..1.12.1412...0j0i67k1j0i30k1j0i10i24k1j0i13i30k1j0i13i30i19k1.2-Z9Mq9zMas#imgsrc=dAh9eWNJeOAT2M

Este fármaco origina dois metabolitos no organismo: N₁-acetiltriétilenotetramina (ou acetiltriéno; MAT) e N₁, N₁₀-diacetiltriétilenotetramina (DAT). O MAT também tem a capacidade de quelatar o cobre (50).

Estes complexos formados com o metal são excretados por via renal, e a quantidade excretada depende da dose de Trientina usada. A quantidade de Trientina excretada é aproximadamente 1% da dose administrada. Normalmente surge na urina nas primeiras 6 horas após a sua administração. A quantidade de acetiltriéno é aproximadamente 8% da dose e a sua excreção ocorre no mínimo, durante 26 horas (50).

A Trientina representa um tratamento eficaz para a DW. Geralmente é utilizada em doentes intolerantes à D-Penicilamina, e as reações adversas resultantes deste agente quelante são resolvidas quando o tratamento é substituído pela Trientina (15). Em pacientes com sintomas neurológicos este fármaco também é preferencialmente utilizado, uma vez que a progressão destes sintomas é menor relativamente à D-Penicilamina (42). Porém, podem surgir algumas reações adversas aquando da sua utilização, classificadas de acordo com o seu impacto no organismo: graves, moderadas e ligeiras. As reações adversas ligeiras manifestam-se maioritariamente no início da terapêutica, tais como a erupção cutânea não especificada, azia e diarreia. A artralgia é também uma reação adversa ligeira, mas que se manifesta numa fase posterior da terapêutica (50). A hemossiderose, a deficiência em zinco, a trombocitopenia e a dermatite de contacto são reações adversas moderadas que podem surgir numa fase posterior da terapêutica. A anemia sideroblástica reversível é uma reação grave, que pode ser uma consequência de um tratamento excessivo. A redução da dose de Trientina é o ideal nestas situações (15). Podem surgir também reações graves tipo lúpus, numa fase tardia do tratamento. As reações adversas descritas previamente apresentam uma incidência desconhecida (50).

A Trientina deve ser evitada em casos de hipersensibilidade a este agente quelante ou aos excipientes das cápsulas. Deve ser utilizada com precaução em doentes com anemia ou hemocromatose. Não está indicada no tratamento da cirrose biliar, pois pode levar a alterações gastrointestinais e originar rabdomiólise (50).

As doses utilizadas de Trientina nos adolescentes e adultos numa fase inicial são de 750-1250 mg/dia, divididas em 2-4 doses. A dose máxima diária nos adultos e adolescentes é de 2000 mg. Nas crianças, num período inicial, são administrados 500-750 mg/dia, separados em 2-4 doses individuais. A dose máxima diária nas crianças é de 1500 mg. As doses em qualquer faixa etária devem ser aumentadas somente se a resposta clínica for inadequada ou se a concentração de cobre livre no soro for $> 20 \mu\text{g/dL}$. A determinação da dose ótima de manutenção deve ser realizada em intervalos de 6 a 12 meses (50).

Num estudo, em 8 doentes com doença hepática, foram administrados 1000 mg/dia de Trientina e 150 mg/dia de Zinco durante 4 meses (seguido de monoterapia com Zinco), o que levou a uma melhoria da função hepática em todos os pacientes (50).

Num outro estudo, em 23 doentes com deterioração neurológica, foram administrados 500 mg de Trientina e 50 mg de Zinco 2x ao dia, durante 8 semanas, seguido de 50 mg de Zinco 3x ao dia, em monoterapia. Em 17 dos 23 utentes ficou demonstrada uma ausência de deterioração neurológica (50).

Noutro registo, os efeitos terapêuticos e a segurança sobre os sintomas neurológicos e hepáticos resultantes do tratamento com D-Penicilamina e Trientina foram avaliados em 405 utentes com DW. Nove utentes tratados com D-Penicilamina e 3 utentes tratados com Trientina foram submetidos a transplante hepático. As reações adversas que levaram à descontinuação da terapêutica foram mais frequentes com D-Penicilamina. A deterioração neurológica foi observada com maior frequência em doentes que receberam Trientina (4 utentes em 38), comparativamente à terapêutica com D-Penicilamina (6 utentes em 295).

Foram relatadas melhorias hepáticas (> 90% dos casos) e neurológicas (> 55% dos casos) (51).

A determinação de cobre livre no soro permite uma melhor monitorização do tratamento. Num tratamento adequado, os doentes apresentam normalmente valores <10 µg de cobre livre/dL de soro. O tratamento com Trientina é também monitorizado através da avaliação da excreção urinária de cobre ao longo de 24 horas, a cada 6 - 12 meses. Se o valor de cobre presente numa colheita de urina de 24 horas estiver entre 0,5 mg - 1 mg, é indicativo de um tratamento eficaz (15,50).

5.2 Zinco

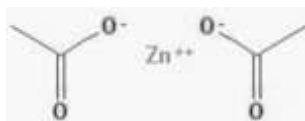


Figura 12. Estrutura química do sal Acetato de zinco; Adaptado de: https://www.google.pt/search?hl=pt-PT&tbm=isch&source=hp&biw=1422&bih=787&q=acetato+de+zinco&oq=acetato+&gs_l=img.3.0.35i39k1j0l9.691.2855.0.3858.11.9.1.0.0.0.319.1236.2j1j3j1.7.0....0...1.1.64.img..3.8.1240.0..0i19k1j0i30i19k1.QMOla1r_xsg#imgsrc=9z5gT9jsj_7BYM

O Zinco foi pela primeira vez usado para tratar a DW por Schouwink em 1961, sob a forma de Cloreto de zinco (18). Este metal interfere com a absorção de cobre no trato gastrointestinal (15). Induz a formação de metalotioneínas nos enterócitos (52), que se coordenam com o cobre presente nos enterócitos, impedindo a sua entrada na circulação portal (15). Uma vez formado este complexo, o cobre não é absorvido a nível gastrointestinal, sendo eliminado por via fecal. O Zinco pode também atuar através da indução dos níveis de metalotioneína hepatocelular, que possibilita a sua ligação ao cobre em excesso, protegendo o fígado (18). O Zinco também inibe a peroxidação lipídica, pois aumenta as concentrações de glutathione e a sua biodisponibilidade, na forma reduzida. Num registo, 18 doentes tratados com Zinco apresentaram maiores concentrações de glutathione reduzida, comparativamente a 6 doentes tratados com D-Penicilamina. Este efeito permitiu uma redução do dano oxidativo (53).

São usados na prática clínica diferentes sais de zinco: sulfato, acetato e gluconato (todos por via oral). Estes sais não diferem em relação à eficácia, mas podem afetar a tolerabilidade gástrica (18). O Acetato de zinco apresenta melhor tolerabilidade (54).

O Zinco tem uma baixa toxicidade. Apresenta poucos efeitos secundários, embora 10% dos doentes possam apresentar irritação gástrica. Porém, esta reação adversa diminui com o decorrer do tratamento (54). Pode induzir efeitos imunossupressores e levar a uma redução da quimiotaxia dos leucócitos. As concentrações de lipase ou amilase séricas podem aumentar, sem apresentar uma evidência clínica ou radiológica de pancreatite (15). A deterioração neurológica é uma reação adversa pouco comum com o tratamento do Zinco (55). Pode surgir também intolerância ao álcool, dores de cabeça, aumento da sudorese e anemia sideroblástica (18).

A sua dose recomendada é de 150 mg por dia. Nos casos em que o peso é inferior a 50 kg (em especial nas crianças), a dose recomendada é de 75 mg (15) (porém, Van Caillie-Bertrand M. et al. administraram a 2 crianças Zinco a 150 mg em dose de carga, e 100 mg em dose de manutenção (56)). Em crianças e adultos, o Zinco deve ser administrado em 3 tomas, 1 hora antes das refeições principais (para aumentar a sua absorção) (18).

O Zinco pode constituir um tratamento de primeira linha em doentes neurológicos ou em estado pré-sintomático (55). Dois jovens, diagnosticados com DW neurológica, receberam Acetato de zinco, numa dose de 1 mg/kg/8h, e tri-hexifenidilo a 4 mg de 8h/8h (antiparkinsoniano). Após 2 semanas de tratamento, a intensidade da distonia nos 2 casos diminuiu.

Num estudo, 2 doentes, com sintomatologia neurológica, receberam, um tratamento com Sulfato de zinco a 200 mg 3x ao dia, tendo posteriormente aumentado para 300 mg 3x ao dia. Foram manifestadas melhorias clínicas (57).

Relativamente à DW hepática, a utilização de Zinco em monoterapia é controversa. Num estudo, em 17 doentes tratados com Zinco, 2 evoluíram para um estado de cirrose descompensada (58). Num outro registo, em 88 doentes tratados com Zinco para a sintomatologia hepática da DW, 14 não obtiveram sucesso (59). Esta progressão da doença sugere estar relacionada com uma menor eficácia na remoção do cobre no organismo (58).

Sempre que existe uma decisão clínica de alterar a terapêutica de um agente quelante para um sal de zinco, o primeiro deve ser mantido por um período de cerca de 3 semanas, já que é o tempo necessário para a indução máxima de metalotioneínas intestinais. De modo a evitar a neutralização da eficácia do sal de zinco pelos agentes quelantes, devem ser considerados diferentes períodos de toma. É recomendado pelo menos 1 hora de diferença entre os fármacos (18).

Apesar de não estar totalmente estabelecido a terapêutica combinada com um agente quelante e um sal de zinco, tem sido uma estratégia adotada que demonstrou resultados satisfatórios (18). Ficou demonstrado que um tratamento inicial com Trientina e Zinco durante pelo menos 4 meses em 9 doentes com DW, que apresentavam descompensação hepática, levou à sua melhoria clínica. Esta opção terapêutica apresentou menor incidência de reações adversas e uma eficácia igual ou ligeiramente superior à D-Penicilamina (60).

A monitorização do tratamento com Zinco realiza-se através de parâmetros clínicos e bioquímicos. Determina-se a excreção urinária de cobre ao longo de 24 horas, que deve ser inferior a 1,6 $\mu\text{mol}/24\text{h}$, num tratamento estável. Pode ser medida com alguma regularidade, o que permite verificar se ocorre ou não uma adesão ao tratamento. O cobre não ligado à ceruloplasmina deve apresentar um valor inferior a 15 $\mu\text{g}/\text{dL}$. É necessária uma monitorização constante de aminotransferases (15).

5.3 Tetratiomolibdato de Amónio

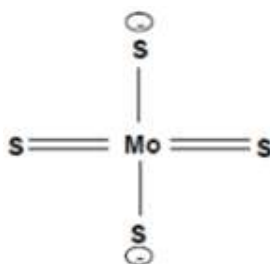


Figura 13: Estrutura Química do ião Tetratiomolibdato de Amónio:

https://www.google.pt/search?hl=pt-PT&biw=1422&bih=738&tbm=isch&sa=1&q=tetratiomolibdato&oq=tetratiomolibdato&gs_l=psy-ab.3..0i19k1j0i13i5i30i19k1.53151.58015.0.58305.17.17.0.0.0.359.1894.8j7j0j1.16.0....0...1.1.64.psy-ab..1.12.1412...0j0i67k1j0i30k1j0i10i24k1j0i13i30k1j0i13i30i19k1.2-Z9Mq9zMas#imgsrc=dAh9eWNJeOAT2M:

O Tetratiomolibdato de Amónio (TM) é um agente que atua na redução de cobre. Foi desenvolvido através de estudos observados no trato gastrointestinal de animais ruminantes. Pode atuar de forma direta e reversível, pois impede que o cobre se ligue às metaloenzimas. Este composto diminui os níveis séricos de ceruloplasmina, citocromo oxidase, ascorbato oxidase, superóxido dismutase e tirosinase. O seu mecanismo de ação depende da interação com os alimentos. Quando é administrado fora das refeições, ocorre um aumento da sua absorção, e formam-se complexos insolúveis com o cobre livre presente no plasma, que são depositados no fígado (torna o cobre inativo). Aquando da sua administração junto com os alimentos, os complexos formados com o cobre presentes nos primeiros impedem a sua absorção (61).

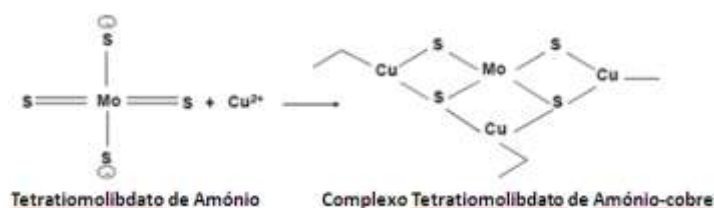


Figura 14. Formação do Complexo Tetratiomolibdato de Amónio-cobre; Adaptado de:

https://www.google.pt/search?hl=pt-PT&biw=1422&bih=738&tbm=isch&sa=1&q=tetratiomolibdato&oq=tetratiomolibdato&gs_l=psyab.3..0i19k1j0i13i5i30i19k1.53151.58015.0.58305.17.17.0.0.0.359.1894.8j7j0j1.16.0....0...1.1.64.psy-ab..1.12.1412...0j0i67k1j0i30k1j0i10i24k1j0i13i30k1j0i13i30i19k1.2-Z9Mq9zMas#imgsrc=dAh9eWNJeOAT2M:

O TM está disponível sob a forma de um sal de amónio $[(\text{NH}_4)_2(\text{MoS}_4)]$ ou de um sal de colina (ATN-224). Contém na sua molécula 4 átomos de enxofre que formam um complexo tripartido muito estável com o cobre e a albumina. Não está aprovado pela US Food and Drug Administration, mas está disponível na Europa desde 2008 para o tratamento da DW (61).

Os efeitos adversos estudados no TM são a supressão da medula óssea, a hepatotoxicidade, disfunções neurológicas (por existir uma remoção do cobre excessiva) e efeitos anti-colinérgicos. Pode também originar anemia ou leucopénia, e originar um aumento das transaminases (61).

Num estudo, o TM foi administrado durante 8-16 semanas, em combinação com o Zinco, para o tratamento dos doentes com sintomas neurológicos de DW. Foi a primeira linha de tratamento proposta por Brewer J. et al. para esta manifestação, em detrimento da D-Penicilamina,

pois o risco de deterioração neurológica adicional é menor. Numa situação de ausência de disponibilidade de TM, a melhor opção terapêutica proposta nestes casos foi a administração de Zinco ou de Trientina (62).

Num estudo, a Trientina e o TM foram comparados para o tratamento de DW com sintomatologia neurológica, durante 8 semanas. Num grupo, administrou-se 500 mg de Trientina 2x ao dia. Noutro, foi administrado 20 mg de TM 3x ao dia com alimentos e 20 mg de TM 3x ao dia fora das refeições. Ambos os grupos receberam 50 mg de Zinco 2x ao dia. Cerca de 26% dos utentes tratados com Trientina sofreram deterioração neurológica. Em relação ao grupo de doentes que recebeu TM, somente 4% revelaram deterioração neurológica (63). O TM revelou um bom controlo dos níveis séricos de cobre ao longo das 8 semanas, contrariamente à Trientina. O grupo de doentes que piorou os seus sintomas neurológicos com a utilização de Trientina revelou picos significativos dos níveis de cobre livre associados ao tempo de agravamento da sintomatologia. Nos doentes em que não houve deterioração neurológica, não foram observados picos de concentração de cobre livre (64).

Noutro registo, o TM foi administrado (120 a 410 mg/dia) em 55 pacientes não tratados com DW (22 deles jovens), durante 8 semanas. Somente 4% dos doentes demonstraram deterioração neurológica, em comparação com aproximadamente 50% de doentes tratados com D-Penicilamina (estimativa prévia ao estudo) (65). O TM mostrou um controlo muito acentuado de níveis de cobre ao longo das 8 semanas de tratamento (64).

5.4 Transplante

Não existe tratamento imediato para a Doença de Wilson Aguda. Os níveis de cobre sérico devem ser diminuídos com maior brevidade possível, por meio de hemofiltração ou plasmoforese. Nestas situações, o tratamento com D-Penicilamina é controverso, devido a um risco aumentado de hipersensibilidade. Uma vez que os casos de IHA devido à DW têm menor incidência, deve-se propor de imediato o doente para transplante hepático (66). O transplante corrige o defeito metabólico subjacente da DW (67).

O transplante hepático é também frequentemente necessário nos doentes que apresentam doença hepática terminal (cirrose; hipertensão portal), e quando as outras opções terapêuticas falham ou são interrompidas (66,67). Num estudo efetuado em Centros Italianos, a principal indicação para o transplante hepático baseou-se no estado crónico da doença (78% dos casos) (68).

O diagnóstico precoce e o encaminhamento são fundamentais para o sucesso do transplante. O momento em que é realizado o transplante hepático, nos casos em que os doentes estão sujeitos a medicação, depende da falta de evidência de melhoria de sintomas físicos e clínicos, e dos parâmetros bioquímicos (69).

Esta opção terapêutica é indicada como primeira linha em aproximadamente 0,5% dos casos nos adultos e em 1,5% nas crianças. A idade média na qual são realizados os transplantes é de 15 anos nas crianças e de 30 anos nos adultos (67).

Após o transplante, o metabolismo de cobre normaliza-se rapidamente. Nos órgãos extra-hepáticos, o excesso de cobre é removido mais lentamente. A redução da excreção urinária de cobre é notória, e os valores normalizam geralmente após 6 a 9 meses. Os anéis de Kayser-Fleischer são removidos parcialmente em todos os doentes e totalmente em mais de 60% dos casos. A normalização dos valores de ceruloplasmina sérica acontece após um mês (67).

Os dados de registo entre Dezembro 1995 e Junho de 2008 revelaram resultados de sobrevida do transplante, em doentes, após 1 e 5 anos: 96% e 91,4%, respetivamente (67).

A indicação para a realização de transplante hepático em doentes com deterioração neurológica deve ser cuidadosamente avaliada (67).

Num registo, 14 pacientes foram submetidos a transplante em diferentes situações: 4 doentes com deterioração neurológica que não responderam a tratamento com agentes quelantes; 9 doentes com insuficiência hepática nas quais o tratamento médico falhou; 1 doente com IHA secundária devido à infeção por *E.coli* do líquido ascítico. A função hepática dos 12 pacientes que sobreviveram revelou-se normal após um período de acompanhamento de 8 anos, apresentando os doentes uma sobrevida após 5 anos de 85,7%. O transplante de fígado ortotópico (OLT) pode mobilizar o cobre do sistema nervoso central, permitindo uma melhoria dos sintomas neurológicos. Sugeriu-se que o OLT fosse considerado em doentes com DW com doenças neurológicas e psiquiátricas incapacitantes, mesmo que a função hepática se apresente estável (70).

Eisenbach C. et al. ao descreverem os critérios de diagnóstico para a Doença de Wilson Aguda, verificaram que 4 dos 7 pacientes em causa sobreviveram sem o transplante hepático. A necessidade deste deve ser cuidadosamente avaliada, uma vez que o prognóstico não é necessariamente fatal (71).

5.5 Tratamento na gravidez

As mulheres diagnosticadas com DW podem engravidar (72). Os valores de cobre no organismo devem ser otimizados antes da gravidez. A análise ao halótipo do parceiro deve ser realizada (15). A monitorização da função hepática deve ser realizada a cada trimestre (18).

O tratamento durante a gravidez deve ser mantido (61). Foi relatado um caso de insuficiência hepática como resultado da descontinuação da terapêutica com D-Penicilamina durante a gravidez, levando inclusive à morte da doente (73). A interrupção da terapêutica com Trientina pode também originar insuficiência hepática (50).

Embora exista preocupação com a D-Penicilamina relativamente à teratogenicidade, em 46 casos de mulheres tratadas com este fármaco na gravidez, somente 2 recém-nascidos nasceram com defeitos graves no tecido conjuntivo (74). Recomenda-se a redução da dose de D-Penicilamina para um mínimo necessário (entre 25 a 50% da dose normal pré-gestação), em especial no último trimestre da gravidez, já que este fármaco interfere com o cross-link do

colagénio (72). A dose administrada recomendada deve estar entre os 300-600 mg/dia. Assim, é também facilitado o processo de cicatrização em partos por cesariana. A amamentação não está recomendada a mulheres em terapêutica com D-Penicilamina, uma vez que este agente quelante é excretado pelo leite materno (72).

No entanto, num registo, Messner U. et al. acompanharam duas gravidezes de uma mesma mulher. Reduziu-se a dose de 900 mg/dia para 750 mg/dia, à 18ª e 16ª semana (na 1ª e 2ª gravidez, respetivamente), tendo mantido este regime posológico até ao fim do período de gestação. Os dois recém-nascidos apresentavam-se saudáveis. Foram acompanhados durante um período de 3 meses na fase de amamentação, e com exceção de icterícia prolongada, não foram observados mais efeitos nos bebés (75).

A Trientina também pode ser usada no tratamento de DW durante a gravidez (categoria “C”). A dose administrada durante o período de gestação deve ser reduzida entre 25 a 50% da dose normal administrada. Uma mulher com doença pré-sintomática foi tratada com Trientina a 1000 mg/dia. O recém-nascido era saudável, e a função hepática da mãe também estava normal (50). Walsh JM. acompanhou 7 mulheres tratadas com Trientina ao longo de 11 gravidezes. Oito recém-nascidos eram saudáveis. Um dos bebés nasceu prematuro e foi-lhe posteriormente diagnosticada uma alteração cromossomal (isocromossomas X). Ocorreu também um aborto terapêutico e outro à 14ª semana de gestação (76). A excreção de Trientina no leite materno não é conhecida. Deve existir uma precaução na administração deste fármaco nesta fase, e devem ser considerados os benefícios de amamentação e os riscos da exposição potencial deste agente quelante nos bebés (50).

Os sais de zinco podem igualmente ser utilizados durante a gravidez. A dose de Zinco deve-se manter inalterada durante o período de gestação (61). Há uma boa evidência de que o Zinco protege a saúde da mulher ao longo da gravidez. Em 26 gravidezes de 19 mulheres tratadas com Zinco, apenas 1 bebé nasceu com microcefalia e com um problema cardíaco cirurgicamente corrigível (77). Lao TT. et al. acompanharam uma mulher chinesa com DW, complicada por ataxia grave, cirrose hepática, esplenectomia e alergia à D-Penicilamina. Na 23ª semana de gestação recebeu 3 meses de tratamento com Sulfato de zinco a 450 mg/dia. O recém-nascido apresentou-se saudável (78).

5.5.1 Contraceção hormonal na Doença de Wilson

Os estrogénios podem interferir na excreção biliar de cobre. Em duas mulheres saudáveis, que realizavam contraceção hormonal de estrogénios, após um período de 3 anos, estavam formados 3 anéis de cobre completos em torno da membrana Descemet. Os seus níveis séricos de cobre e ceruloplasmina estavam aumentados. Após a suspensão da administração de estrogénios, os níveis de cobre serológico regressaram ao normal (79). É necessária uma preocupação acrescida da contraceção hormonal com estrógenos, pois é considerada “relativamente contra-indicada” em situações de disfunção hepática (80).

Pelo facto de muitos dispositivos intra-uterinos terem cobre na sua constituição, são prescritos com segurança: espermicidas, métodos contraceptivos de barreira e formulações à base de progesterona (80).

5.7 Outros tratamentos

A L-Dopa pode ser utilizada para melhorar os sintomas neurológicos associados à Doença de Wilson (9).

A acetilcisteína pode ser administrada aos doentes até se encontrar um dador compatível para o transplante hepático (14).

Os anti-oxidantes podem desempenhar um papel adjuvante no tratamento da doença, em situações de falha hepática (81,82). Relativamente à vitamina E, ficou demonstrada a sua diminuição nos níveis hepáticos (37% (81)) e nos níveis séricos (em 20 doentes num total de 34 (82)). Porém, a melhoria dos sintomas da DW aquando do acréscimo de vitamina ao tratamento foi ocasional (15). Noutro registo, Sinha et al. revelaram uma inexistência de correlação entre um défice de vitamina E e o estado clínico de DW (82). O betacaroteno, o ácido alfa-lipóico e os polifenóis demonstraram atenuar o dano oxidativo induzido pelo Cu (83).

O tratamento in vitro realizado com 4-fenilbutirato e curcumina (pigmento natural do Açafrão da Índia) demonstrou uma melhoria na expressão proteica de ATP7B (83). A curcumina pode também atuar como agente quelante do cobre (forma um complexo 1:1). Este complexo possui atividade de SOD e potencial antioxidante (85).

A amitriptilina, ao reduzir da apoptose induzida pelo cobre, aumentou a sobrevivência de ratos com deficiência de ATP7B (15).

6. Alimentação

Os alimentos que contêm grandes concentrações em cobre, como o marisco, as nozes, o chocolate e os cogumelos, devem ser evitados, em especial no primeiro ano de tratamento. Os animais domésticos têm níveis de cobre mais elevados nas vísceras, pelo que também devem ser evitados. Os sistemas de canalização e de purificação de água feitos de cobre devem ser analisados e revistos, de modo a controlar os níveis de cobre que são ingeridos através da água (4,14).

7. Conclusão

A Doença de Wilson, apesar de rara, deve ser considerada em qualquer indivíduo, de qualquer idade, que apresente sintomatologia hepática ou neurológica.

A abordagem farmacoterapêutica, bem como a sua monitorização, permitiram um melhor controlo da doença e qualidade de vida dos doentes, nos países desenvolvidos, através de avanços a nível tecnológico e científico. No entanto, nos países em desenvolvimento, o mesmo não se tem verificado.

Presentemente, tem havido um aumento de consciencialização dos doentes para alterações dos hábitos alimentares, de modo a diminuir a quantidade ingerida de cobre. Porém, nos países em desenvolvimento, não se observam mudanças de hábitos, principalmente devido a questões culturais.

As perspetivas futuras de tratamento da doença poderão vir a incluir a terapêutica genética. São também aguardados estudos em humanos, nesta área tão promissora.

8. Referências bibliográficas

1. Sargentelli V, Mauro AE, Massabni AC. Aspectos do Metabolismo do Cobre no Homem. Quim Nova. 1996;19(3):290–3.
2. Salgueiro de Magalhães Gomes C. Cobre: Fisiologia e Fisiopatologia. Almada. Dissertação [Mestrado em Ciências Farmacêuticas]-Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. 2016
3. World Health Organization. Copper: Environmental health criteria;200 [página Web] Geneva: UNEP, ILO, WHO; 1998 [citado em 2017 15 abril]; Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc200.htm>
4. World Health Organization. Copper in Drinking-water - Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO; 2004
5. World Health Organization. WHO guidelines for drinking-water quality. third edit. Vol. 1, WHO chronicle. Geneva: WHO; 2008
6. Taly AB, Meenakshi-Sundaram S, Sinha S, Swamy HS, Arunodaya GR. Wilson disease: description of 282 patients evaluated over 3 decades. Medicine (Baltimore). 2007 Mar;86(2):112–21.
7. Uauy R, Olivares M, Gonzalez M. Essentiality of copper in humans. Am J Clin Nutr. 1998 May;67(5 Suppl):952S–959S.
8. Pena MM, Lee J, Thiele DJ. A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution. J Nutr. 1999 Jul;129(7):1251–60.
9. Inara Arcaro G, Scabine J. Doença de Wilson. Ribeirão Preto-São Paulo. Monografia [Programa de Aprimoramento Profissional] -Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-São Paulo; 2008
11. Wu F, Wang J, Pu C, Qiao L, Jiang C. Wilson's disease: a comprehensive review of the molecular mechanisms. Int J Mol Sci. 2015 Mar;16(3):6419–31.
12. Lisa M, Gaetke HS, Johnson C, Chow CK. Copper: Toxicological relevance and mechanisms. Arch Toxicol. 2014 Nov; 88(11): 1929–1938.
13. Ferreira TMC, Cardoso ÉL da S, Ferreira EMV, Andrade RS de, Silva KDL. Cuidando da criança hospitalizada com Doença de Wilson: relato de experiência/ Taking care of hospitalized child with Wilson's Disease: experience report. Ciência, Cuid e Saúde. 2016;15(3):575–81.
14. Mendes Martins M. Doença de Wilson-Projecto Tutorial. [Apresentado em Bioquímica II no Instituto Superior de Ciências da Saúde do Norte; 2008 Jan 7]
15. European Association for the Study of the Liver. EASL Practice Guidelines: Wilson's Disease. J Hepatol. 2012;56:671–85.
16. Patil M, Sheth KA, Krishnamurthy AC, Devarbhavi H. A review and current perspective on Wilson disease. J Clin Exp Hepatol. 2013 Dec;3(4):321–36.
17. Lang PA, Schenck M, Nicolay JP, Becker JU, Kempe DS, Lupescu A, et al. Liver cell death and anemia in Wilson disease involve acid sphingomyelinase and ceramide. Nat Med. 2007 Feb;13(2):164–70.
18. Rodriguez-Castro KI, Hevia-Urrutia FJ, Sturniolo GC. Wilson's disease: A review of

- what we have learned. *World J Hepatol.* 2015 Dec;7(29):2859–70.
19. Reilly M, Daly L, Hutchinson M. An epidemiological study of Wilson disease in the Republic of Ireland. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1993;(56):298–300.
 20. Ferenci P, Czlonkowska A, Merle U, Ferenc S, Gromadzka G, Yurdaydin C, et al. Late-onset Wilson's disease. *Gastroenterology.* 2007 Apr;132(4):1294–8.
 21. Wilson DC, Phillips MJ, Cox DW, Roberts EA. Severe hepatic Wilson's disease in preschool-aged children. *J Pediatr.* 2000 Nov;137(5):719–22.
 22. Czlonkowska A, Rodo M, Gromadzka G. Late onset Wilson's disease: therapeutic implications. *Mov Disord.* 2008 Apr;23(6):896–8.
 23. Walshe JM, Dixon AK. Dangers of non-compliance in Wilson's disease. *Lancet (London, England).* 1986 Apr;1(8485):845–7.
 24. Czlonkowska A, Gromadzka G, Buttner J, Chabik G. Clinical features of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count syndrome in undiagnosed Wilson disease: report of two cases. *Arch Gynecol Obstet.* 2010 Jan;281(1):129–34.
 25. Forman SJ, Kumar KS, Redeker AG, Hochstein P. Hemolytic anemia in Wilson disease: clinical findings and biochemical mechanisms. *Am J Hematol.* 1980;9(3):269–75.
 26. Kant Kumar M, Kumar V, Kumar Singh P. Wilson's disease with neurological presentation, without hepatic involvement in two siblings. *J Clin Diagnostic Res.* 2013;7(7):1476–8.
 27. Svetel M, Kozic D, Stefanova E, Semnic R, Dragasevic N, Kostic VS. Dystonia in Wilson's disease. *Mov Disord.* 2001 Jul;16(4):719–23.
 28. Svetel M, Potrebic A, Pekmezovic T, Tomic A, Kresojevic N, Jesic R, et al. Neuropsychiatric aspects of treated Wilson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009 Dec;15(10):772–5.
 29. Chu CC, Huang CC, Chu NS. Recurrent hypokalemic muscle weakness as an initial manifestation of Wilson's disease. *Nephron.* 1996;73(3):477–9.
 30. Fátima J, Karoli R, Jain V. Hypoparathyroidism in a case of Wilson's disease: Rare association of a rare disorder. *Indian J Endocrinol Metab* 2013;17(2):361–62
 31. Weizman Z, Picard E, Barki Y, Moses S. Wilson's disease associated with pancreatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1988;7(6):931–3.
 32. Merle U, Schaefer M, Ferenci P, Stremmel W. Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study. *Gut.* 2007 Jan;56(1):115–20.
 33. Czlonkowska A, Tarnacka B, Litwin T, Gajda J, Rodo M. Wilson's disease-cause of mortality in 164 patients during 1992-2003 observation period. *J Neurol.* 2005 Jun;252(6):698–703.
 34. Dhawan A, Taylor RM, Cheeseman P, De Silva P, Katsiyiannakis L, Mieli-Vergani G. Wilson's disease in children: 37-year experience and revised King's score for liver transplantation. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2005 Apr;11(4):441–8.
 35. Merle U, Eisenbach C, Weiss KH, Tuma S, Stremmel W. Serum ceruloplasmin oxidase activity is a sensitive and highly specific diagnostic marker for Wilson's disease. *J Hepatol.* 2009 Nov;51(5):925–30.

36. Muller T, Koppikar S, Taylor RM, Carragher F, Schlenck B, Heinz-Erian P, et al. Re-evaluation of the penicillamine challenge test in the diagnosis of Wilson's disease in children. *J Hepatol*. 2007 Aug;47(2):270–6.
37. Tu JB, Blackwell RQ. Studies on levels of penicillamine-induced cupriuresis in heterozygotes of Wilson's disease. *Metabolism*. 1967 Jun;16(6):507–13.
38. Ferenci P, Steindl-Munda P, Vogel W, Jessner W, Gschwantler M, Stauber R, et al. Diagnostic value of quantitative hepatic copper determination in patients with Wilson's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005 Aug;3(8):811–8.
39. Leinweber B, Moller JC, Scherag A, Reuner U, Gunther P, Lang CJG, et al. Evaluation of the Unified Wilson's Disease Rating Scale (UWDRS) in German patients with treated Wilson's disease. *Mov Disord*. 2008 Jan;23(1):54–62.
40. Tarnacka B, Szeszkowski W, Golebiowski M, Czlonkowska A. MR spectroscopy in monitoring the treatment of Wilson's disease patients. *Mov Disord*. 2008 Aug;23(11):1560–6.
41. Loudianos G, Dessi V, Lovicu M, Angius A, Figus A, Lilliu F, et al. Molecular characterization of wilson disease in the Sardinian population--evidence of a founder effect. *Hum Mutat*. 1999;14(4):294–303.
42. Oliveira e Sá HJ. Agentes Quelantes com Utilização Terapêutica. Porto. Dissertação [Mestrado em Ciências Farmacêuticas]- Faculdade de Ciências e de Saúde-Universidade Fernando Pessoa. 2013.
43. Flora SJS, Pachauri V. Chelation in metal intoxication. *Int J Environ Res Public Health*. 2010;7(7):2745–88.
44. Andersen O. Chemical and biological considerations in the treatment of metal intoxications by chelating agents. *Mini Rev Med Chem*. 2004 Jan;4(1):11–21.
45. Netter P, Bannwarth B, Pere P, Nicolas A. Clinical pharmacokinetics of D-penicillamine. *Clin Pharmacokinet*. 1987 Nov;13(5):317–33.
46. Caramona M, Esteves AP, Gonçalves J, Macedo T, Mendonça J, Osswald W, et al. Prontuário Terapêutico-11 [Internet]. Lisboa: INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, IP/Ministério da Saúde; 2012 [citado em 2017 10 maio]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/prontuario/framepesactivos.php?palavra=flurbiprofeno&x=0&y=0&rb1=0>
47. Durand F, Bernuau J, Giostra E, Mentha G, Shouval D, Degott C, et al. Wilson's disease with severe hepatic insufficiency: beneficial effects of early administration of D-penicillamine. *Gut*. 2001;48(6):849–52.
48. Teive HAG, Barbosa ER, Lees AJ, Teive HAG, Barbosa ER, Lees AJ. Wilson's disease: the 60th anniversary of Walshe's article on treatment with penicillamine. *Arq Neuropsiquiatr*. 2017;75(1):69–71.
49. Malfatti CRM, Dos Santos FS, Wouk J, da Silva LA, Michel RG, Snak AL, et al. Intracerebroventricular administration of the (1-->6)-beta-d-glucan (lasiodiplodan) in male rats prevents d-penicillamine-induced behavioral alterations and lipoperoxidation in the cortex. *Pharm Biol*. 2017;55(1):1289–94.
50. Prescribers' Digital Reference. trientine hydrochloride- Drug Summary [página Web] Whippay: PDR; 2017 [citado em 2017 12 maio]. Disponível em:

<http://www.pdr.net/drug-summary/Syprine-trientine-hydrochloride-1386>

51. Weiss KH, Thurik F, Gotthardt DN, Schafer M, Teufel U, Wiegand F, et al. Efficacy and safety of oral chelators in treatment of patients with Wilson disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013 Aug;11(8):1022-8.
52. Sturniolo GC, Mestriner C, Irato P, Albergoni V, Longo G, D'Inca R. Zinc therapy increases duodenal concentrations of metallothionein and iron in Wilson's disease patients. *Am J Gastroenterol*. 1999 Feb;94(2):334-8.
53. Farinati F, Cardin R, D'inca R, Naccarato R, Sturniolo GC. Zinc treatment prevents lipid peroxidation and increases glutathione availability in Wilson's disease. *J Lab Clin Med*. 2003 Jun;141(6):372-7.
54. Brewer GJ. Zinc acetate for the treatment of Wilson's disease. *Expert Opin Pharmacother*. 2001 Sep;2(9):1473-7.
55. Czlonkowska A, Gajda J, Rodo M. Effects of long-term treatment in Wilson's disease with D-penicillamine and zinc sulphate. *J Neurol*. 1996 Mar;243(3):269-73.
56. Van Caillie-Bertrand M, Degenhart HJ, Visser HK, Sinaasappel M, Bouquet J. Oral zinc sulphate for Wilson's disease. *Arch Dis Child*. 1985;60(7):656-9.
57. Hoogenraad TU, Van den Hamer CJ, Van Hattum J. Effective treatment of Wilson's disease with oral zinc sulphate: two case reports. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1984 Aug;289(6440):273-6.
58. Linn FHH, Houwen RHJ, van Hattum J, van der Kleij S, van Erpecum KJ. Long-term exclusive zinc monotherapy in symptomatic Wilson disease: experience in 17 patients. *Hepatology*. 2009 Nov;50(5):1442-52.
59. Weiss KH, Gotthardt DN, Klemm D, Merle U, Ferenci-Foerster D, Schaefer M, et al. Zinc monotherapy is not as effective as chelating agents in treatment of Wilson disease. *Gastroenterology*. 2011 Apr;140(4):1189-1198.e1.
60. Askari FK, Greenson J, Dick RD, Johnson VD, Brewer GJ. Treatment of Wilson's disease with zinc. XVIII. Initial treatment of the hepatic decompensation presentation with trientine and zinc. *J Lab Clin Med*. 2003 Dec;142(6):385-90.
61. Hedera P. Update on the clinical management of Wilson's disease. *Appl Clin Genet*. 2017;10:9-19.
62. Brewer GJ. Neurologically presenting Wilson's disease: epidemiology, pathophysiology and treatment. *CNS Drugs*. 2005;19(3):185-92.
63. Brewer GJ, Askari F, Lorincz MT, Carlson M, Schilsky M, Kluin KJ, et al. Treatment of Wilson disease with ammonium tetrathiomolybdate: IV. Comparison of tetrathiomolybdate and trientine in a double-blind study of treatment of the neurologic presentation of Wilson disease. *Arch Neurol*. 2006 Apr;63(4):521-7.
64. Brewer GJ, Askari F, Dick RB, Sitterly J, Fink JK, Carlson M, et al. Treatment of Wilson's disease with tetrathiomolybdate: V. Control of free copper by tetrathiomolybdate and a comparison with trientine. *Transl Res*. 2009 Aug;154(2):70-7.
65. Brewer GJ, Hedera P, Kluin KJ, Carlson M, Askari F, Dick RB, et al. Treatment of Wilson disease with ammonium tetrathiomolybdate: III. Initial therapy in a total of 55 neurologically affected patients and follow-up with zinc therapy. *Arch Neurol*. 2003 Mar;60(3):379-85.

66. Alberto SF, Pires S, Figueiredo A, De Deus JR. Insuficiência hepática aguda. *Acta Med Port.* 2009;22(6):809–20.
67. Catana AM, Medici V. Liver transplantation for Wilson disease. *World J Hepatol.* 2012;4(1):5–10.
68. Medici V, Mirante VG, Fassati LR, Pompili M, Forti D, Del Gaudio M, et al. Liver transplantation for Wilson's disease: The burden of neurological and psychiatric disorders. *Liver Transplant.* 2005 Sep;11(9):1056–63.
69. Weiss KH, Gotthardt D, Schmidt J, Schemmer P, Encke J, Riediger C, et al. Liver transplantation for metabolic liver diseases in adults: indications and outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 2007 Sep;22 Suppl 8:viii9-viii12.
70. Marin C, Robles R, Parrilla G, Ramirez P, Bueno FS, Parrilla P. Liver transplantation in Wilson's disease: are its indications established? *Transplant Proc.* 2007 Sep;39(7):2300–1.
71. Eisenbach C, Stremmel W, Encke J, Merle U. Diagnostic criteria for acute liver failure due to Wilson disease. *World J Gastroenterol.* 2007 Mar;13(11): 1711-4.
72. Roberts EA, Schilsky ML. A practice guideline on Wilson disease. *Hepatology.* 2003;37(6):1475–92.
73. Shimono N, Ishibashi H, Ikematsu H, Kudo J, Shirahama M, Inaba S, et al. Fulminant hepatic failure during perinatal period in a pregnant woman with Wilson's disease. *Gastroenterol Jpn.* 1991 Feb;26(1):69–73.
74. Endres W. D-penicillamine in pregnancy--to ban or not to ban? *Klin Wochenschr.* 1981 Jun;59(11):535–7.
75. Messner U, Gunter HH, Niesert S. Wilson disease and pregnancy. Review of the literature and case report. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 1998;202(2):77–9.
76. Walshe JM. The management of pregnancy in Wilson's disease treated with trientine. *Q J Med.* 1986 Jan;58(225):81–7.
77. Brewer GJ, Johnson VD, Dick RD, Hedera P, Fink JK, Kluin KJ. Treatment of Wilson's disease with zinc. XVII: treatment during pregnancy. *Hepatology.* 2000 Feb;31(2):364–70.
78. Lao TT, Chin RK, Cockram CS, Leung NW. Pregnancy in a woman with Wilson's disease treated with zinc. *Asia-Oceania J Obstet Gynaecol.* 1988 Jun;14(2):167–9.
79. Garmizo G, Frauens BJ. Corneal copper deposition secondary to oral contraceptives. *Optom Vis Sci.* 2008 Sep;85(9):E802-7.
80. Haimov-Kochman R, Ackerman Z, Anteby EY. The contraceptive choice for a Wilson's disease patient with chronic liver disease. *Contraception.* 1997 Oct;56(4):241–4.
81. von Herbay A, de Groot H, Hegi U, Stremmel W, Strohmeyer G, Sies H. Low vitamin E content in plasma of patients with alcoholic liver disease, hemochromatosis and Wilson's disease. *J Hepatol.* 1994 Jan;20(1):41–6.
82. Sinha S, Christopher R, Arunodaya GR, Prashanth LK, Gopinath G, Swamy HS, et al. Is low serum tocopherol in Wilson's disease a significant symptom? *J Neurol Sci.* 2005 Feb;228(2):121–3.
83. Gaetke LM, Chow CK. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology.* 2003 Jul;189(1–2):147–63.

84. van den Berghe PVE, Stapelbroek JM, Krieger E, de Bie P, van de Graaf SFJ, de Groot REA, et al. Reduced expression of ATP7B affected by Wilson disease-causing mutations is rescued by pharmacological folding chaperones 4-phenylbutyrate and curcumin. *Hepatology*. 2009 Dec;50(6):1783–95.
85. Barik A, Mishra B, Shen L, Mohan H, Kadam RM, Dutta S, et al. Evaluation of a new copper(II)-curcumin complex as superoxide dismutase mimic and its free radical reactions. *Free Radic Biol Med*. 2005 Sep;39(6):811–22.

9. Anexos

IUPAC Periodic Table of the Elements

For rules and updates to this table, see www.iupac.org. This version is dated 28 November 2016. Copyright © 2016 IUPAC, the International Union of Pure and Applied Chemistry.

Figura 1- Tabela Periódica dos Elementos - https://www.google.pt/search?hl=pt-PT&biw=1422&bih=787&tbm=isch&sa=1&q=tabela+periodica+iupac+28+novemner&oq=tabela+periodica+iupac+28+novemner&gs_l=psy-ab.3...1907.6855.0.6991.14.13.1.0.0.0.509.1841.9j2f0j1j0j1.13.0....0...1.1.64.psy-ab...1.2.183...0i30k1j0i24k1.xcgPaW4xB2M#imgsrc=GU1rWXKqQm9D0M

Tabela 1. Quantidade de Cobre (mg/kg) em diferentes alimentos; Adaptado da referência (2)

Alimentos	Quantidade de Cobre (mg/kg)
Leite	
Humano	0,2 – 0,76
Vaca	0,1 – 0,88
Magro em pó	0,7
Vísceras	
Rim de bovino	2,1 – 4,3
Fígado de bovino	157
Cereais	
Milho	0,66 – 16,6
Trigo	3,3 – 36
Arroz	0,6 – 3,1
Vegetais	
Batata	0,48 – 16
Batata doce	0,15
Ervilha	1,9 – 2,4
Couve	0,1 – 1,7

Tabela 1. Quantidade de Cobre (mg/kg) em diferentes alimentos; Adaptado da referência (2) (cont.)

Alimentos	Quantidade de Cobre (mg/kg)
Peixe	
Atum	0,1 – 1,2
Salmão	0,5 – 0,8

Tabela 2. Doses diárias recomendadas de ingestão de cobre (mg), por faixa etária; Adaptado da referência (5).

Faixas Etárias	Dose Diária Recomendada de Cobre (mg)
Lactentes (meses)	
< 6	0,2
6-12	0,22
Crianças (anos)	
1-3	0,34
4-8	0,44
9-13	0,7
14-18	0,89
Adultos (anos)	
> 19	0,9
Grávidas	1
Mulheres a amamentar	1,3

Tabela 3. Exemplos de Enzimas Cupro-Dependentes e respectivas reações catalisadas e função; Adaptado das referências (7) e (8).

Enzimas Cupro-Dependentes	Reações Catalisadas	Função
Citocromo C-oxidase	Reduz O ₂ em H ₂ O, formando ATP	Respiração Celular – mitocôndria
Tirosinase	Conversão de tirosina em dopamina; Oxidação da dopamina em dopaquinona.	Síntese da melanina
Superóxido dismutase 1	Cataliza a dismutação dos aniões superóxido	Antioxidante
Amino-Oxidases	Remoção do grupo amino dos aminoácidos, que se transformam no cetoácido correspondente	Desaminação oxidativa de aminas primárias
Ceruloplasmina	Converte o Fe ⁺² da ferritina em Fe ⁺³ da transferrina	Transporte de cobre; transporte de ferro; antioxidante
Dopamina β-hidroxilase	Transforma dopamina em noradrenalina	Síntese de catecolaminas

Tabela 4. Exemplos de Metalotioneínas e algumas das suas características; Adaptado da referência (7).

Exemplos de Metalotioneínas	Caraterísticas
Ceruloplasmina	Transporte de Cu (cerca de 66%)
Albumina	Transporte de Cu (5 a 18%)
Ligandos de Baixo Peso Molecular (histidina, treonina, cisteína)	Transporte de 1 a 4% de cobre
Transcrupeína	Aparenta desempenhar um papel no transporte de Cu
Fator de Coagulação V	Tem 1 átomo de Cu na sua constituição

Tabela 5. Fatores de transcrição e genes alvo dependentes do cobre e respetiva função; Adaptado das referências (7) e (8).

Fatores de transcrição e genes alvo	Função
Mac1	
MT	Armazenamento celular de cobre e tampão
CTT1	Catálise citosólica
FRE1	Redutase cobre/ferro da membrana
Amt1	
MTI, MTII α , MTTI β	Armazenamento celular de cobre e tampão
SOD1	Dismutação de superóxido
Ace1	
MT	Armazenamento celular de cobre e tampão
SOD1	Dismutação de superóxido
Cup9	Distribuição celular de cobre

Tabela 6. Sintomas clínicos em doentes com DW que apresentam Doença Hepática; Adaptado da referência (15)

Autor, País	Walshe et al.; Reino Unido	Schilsky ML. et al.; EUA	Ferenci P. et al.; Áustria
Nº de doentes hepáticos	87 (em > 250)	20* (em 320)	30 (em 64)
Sintomas (%)			
Icterícia, anorexia, vômitos	44	15	37
Ascite/edema	26	50	23
Hemorragia Varicosa	6	10	3
Diátese Hemorrágica	8		3
Hemólise	20	5	10
Hepatomegália/Esplenomegália	16	15	17
IHA			17
Assintomáticos**		5	23

*Apenas nos casos de hepatite crónica ativa;

**ALT elevada em testes de rotina, ou casos de cirrose ou de anéis de Kayser-Fleischer

Tabela 7. Índice de Prognóstico na Doença de Wilson; Adaptado da referência (15)

Pontuação	1*	2*	3*	4*
Bilirrubina sérica (µmol/L)	100 – 150	151 – 200	201 - 300	>300
AST (U/L)	100 – 150	151 – 300	301 - 400	>400
INR	1,3 - 1,6	1,7 - 1,9	2,0 - 2,4	>2,4
Leucócitos (10⁹/L)	6,8 - 8,3	8,4 - 10,3	10,4 - 15,3	>15,3
Albumina (g/L)	34 – 44	25 – 33	21 - 24	<21

* Pontuação, limite superior ao normal para AST= 20 UI/mL. Uma pontuação ≥11 está associada a uma elevada probabilidade de morte, na ausência de transplante hepático.

Tabela 8. Sistema de pontuação de diagnóstico desenvolvido na 8ª reunião Internacional da Doença de Wilson, em Leipzig, 2001; Adaptado da referência (15)

Sintomas e sinais típicos		Outros testes	
Anéis de Kayser-Fleischer		Cobre no fígado ($\mu\text{mol/g}$) (na ausência de colestase)	
Presente	2	> 5x LSN (>4)	2
Ausente	0	0,8 - 4	1
Sintomas neurológicos		Normal (<0,8)	-1
Grave	2	Grânulos	1
Moderado	1	Cobre na urina (na ausência de hepatite aguda)	
Ausente	0	Normal	0
Ceruloplasmina sérica (g/L)		1 - 2x LSN	1
Normal (>0,2)	0	> 2x LSN	2
0,1 – 0,2	1	Normal, mas > 5x LSN após D-Penicilamina	2
<0,1	2	Análise de mutações	
Anemia hemolítica de Coombs - negativa		Detetada em ambos	4
Presente	1	Detetada em 1 cromossoma	1
Ausente	0	Nenhuma mutação detetada	0
Pontuação total		Avaliação	
≥ 4		Diagnóstico estabelecido	
3		Diagnóstico possível, mais testes necessários	
≤ 2		Diagnóstico muito improvável	

*LSN: Limite Superior ao Normal

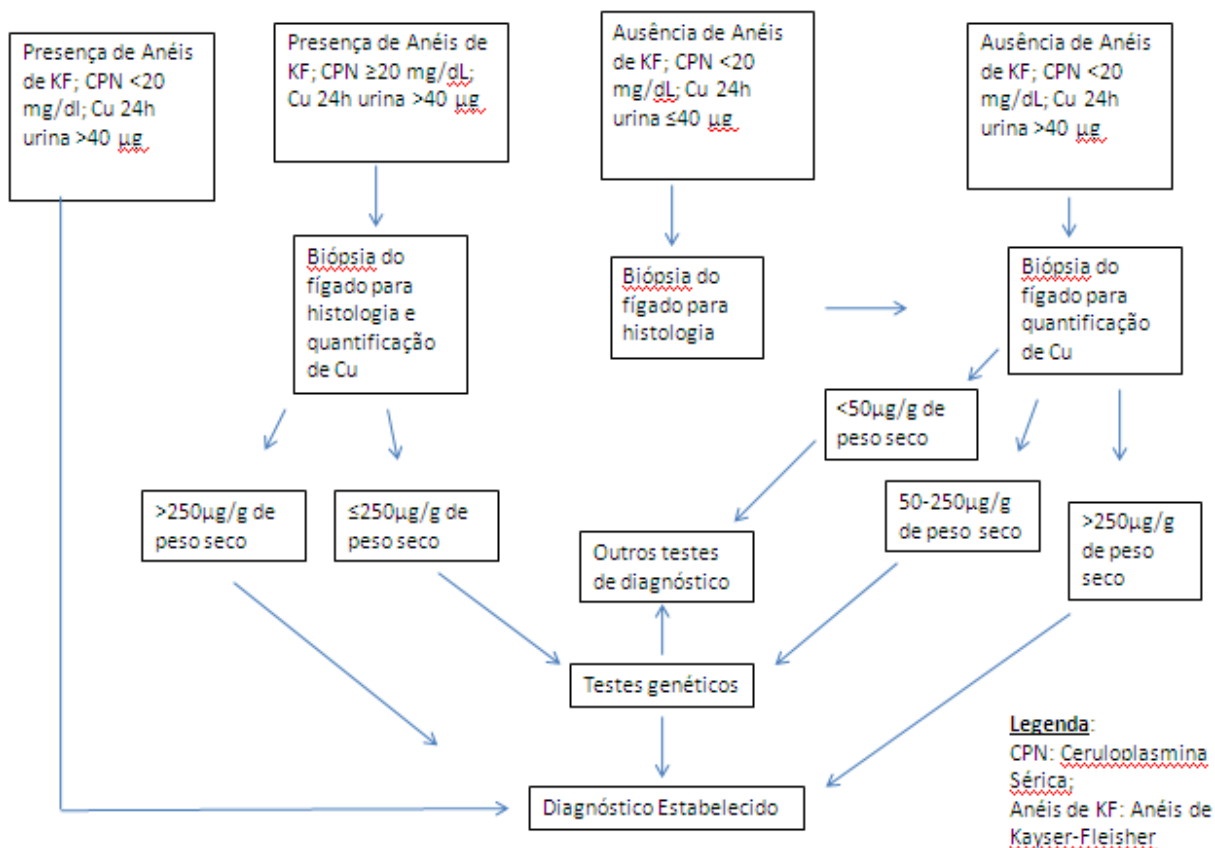


Figura 2: Métodos de diagnóstico da Doença de Wilson; Adaptado de: Roberts EA et al. Hepatology. 2008;47: 2089-2111

Tabela 9. Vantagens e desvantagens da terapêutica quelante; Adaptado da referência (43)

Vantagens	Desvantagens
Efetiva nas intoxicações agudas	Redistribuição do metal no organismo
Forma complexos não tóxicos	Não remove o metal dos compartimentos intracelulares
Remove o metal dos tecidos moles	Recuperação clínica lenta
Via oral disponível	Reações adversas
	Hepatotoxicidade e Nefrotoxicidade